



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL – UFFS
CAMPUS CERRO LARGO
CURSO DE AGRONOMIA

IVAN ENRIQUE KOTOWSKI

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONOMICA DO INOCULANTE A
BASE DE *AZOSPIRILLUM brasiliense* NA CULTURA DO MILHO**

CERRO LARGO – RS

2015

IVAN ENRIQUE KOTOWSKI

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DO INOCULANTE A BASE DE
AZOSPIRILLUM brasiliense NA CULTURA DO MILHO**

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. Douglas Rodrigo Kaiser
Co-orientador: Prof. Dr. Gilmar Roberto Meinerz

CERRO LARGO - RS

2015

DGI/DGCI - Divisão de Gestão de Conhecimento e Inovação

Kotowski, Ivan Enrique

Avaliação da eficiência agronômica do inoculante a base de *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho/
Ivan Enrique Kotowski. -- 2015.

49 f.:il.

Orientador: Douglas Rodrigo Kaiser.

Co-orientador: Gilmar Roberto Meinerz.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Agronomia , Cerro Largo, RS, 2015.

1. Zea mays. 2. Adubação nitrogenada. 3. Fixação biológica. 4. *Azospirillum brasiliense*. I. Kaiser, Douglas Rodrigo, orient. II. Meinerz, Gilmar Roberto, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

IVAN ENRIQUE KOTOWSKI

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DO INOCULANTE A BASE DE
AZOSPIRILLUM brasiliense NA CULTURA DO MILHO

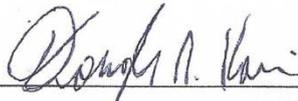
Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. Douglas Rodrigo Kaiser

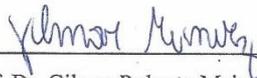
Co-orientador: Prof. Dr. Gilmar Roberto Meinerz

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 24/11/2015

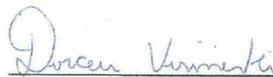
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Douglas Rodrigo Kaiser – UFFS



Prof. Dr. Gilmar Roberto Meinerz – UFFS



Engenheiro Agrônomo Dirceu Visineski – DuPont Pioneer Sementes

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por iluminar meus passos, abençoar minhas conquistas.

Aos meus pais Osvaldo e Cristina e a toda minha família pelo apoio, incentivo e carinho.

Ao meu professor orientador Douglas Rodrigo Kaiser pela confiança, orientação e ensinamentos durante toda a graduação, trabalho de conclusão de curso e estágio.

Ao meu professor co-orientador Gilmar Meinerz por todo apoio.

A todos os professores da UFFS que contribuíram com seus ensinamentos para a minha formação profissional.

Agradeço a empresa Simbiose - Agro de Cruz Alta – RS pelo material cedido para a realização desse trabalho.

Agradeço aos colegas, amigos e a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

RESUMO

O principal objetivo deste trabalho é identificar a eficiência da inoculação em sementes de milho com o inoculante a base de bactérias *Azospirillum brasilense* associado a diferentes doses de adubação nitrogenada. Foram testados nesse estudo nove diferentes tratamentos: testemunha, somente inoculação, inoculação + 30 N/ha, inoculação + 60 N/ha, inoculação + 120 N/ha, 30 N/ha, 60 N/ha, 120 N/ha e dose dobrada da inoculação + 30 N/ha. Os tratamentos foram distribuídos em 4 blocos casualizados. As parcelas tiveram área de 30 metros quadrados, com dimensões de 10 metros de comprimento e 3 metros de largura. Foram avaliados os parâmetros altura de planta, altura até inserção de espiga, diâmetro de colmo, área foliar, índice de área foliar, produtividade, peso de 1000 grãos, comprimento e diâmetro de espigas. A análise de variância dos dados e as médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott com auxílio do programa computacional SASM-agri. As maiores produtividades, bem como, os maiores valores de altura de planta, altura de inserção de espiga, área foliar, índice de área foliar, diâmetro de espiga, comprimento de espiga e peso de 1000 grãos vieram em consequência dos tratamentos com os maiores teores de adubação nitrogenada, não diferindo estatisticamente entre eles pela presença de inoculação.

Palavras-chave: *Azospirillum brasiliense*, Milho, Inoculação.

ABSTRACT

The main objective of this work is to identify the efficiency of inoculation in corn seeds using inoculants based on *Azospirillum brasiliense* associated with different nitrogen fertilizing doses. This study evaluated nine different treatments: control, only inoculation, inoculation + 30 N/ha, inoculation + 60 N/ha, inoculation + 120 N/ha, 30 N/ha, 60 N/ha, 120 N/ha and double dose inoculation + 30 N / ha. The treatments were distributed in 4 randomized blocks, with dimensions of 10 meters long and 3 meters wide. Were evaluated plant height, height to insertion spike, stem diameter, leaf area, leaf area index, yield, 1000 grain weight and length and diameter of ears. The data variance analysis and its averages were compared by Scott Knott test with the computer program SASM-agri. The highest productivities, as the highest plant height, height to insertion spike, leaf area, leaf area index and stem diameter appeared in consequence of the largest nitrogen fertilizer levels, which did not differ statistically between them with inoculation.

Keywords: *Azospirillum brasiliense*, Corn, inoculation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Processo de Semeadura Manual do Milho.....	27
Figura 2: Aplicação de adubação nitrogenada no milho.	28
Figura 3: Danos à planta de milho devido ao ataque da Lagarta do Cartucho.....	29
Figura 4: Precipitação pluviométrica ao longo do ciclo da cultura do milho.....	31
Figura 5: Temperatura e umidade relativa ao longo do ciclo da cultura do milho.....	32
Figura 6: Altura de plantas entre os diferentes tratamentos.	33
Figura 7: Maturação do milho. Tratamento 6 (30 N/ha)	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tratamentos e condições avaliadas no experimento.....	26
Tabela 2: Resultados da análise química do solo realizada no início de 2014 na área de implantação do experimento.....	26
Tabela 3: Altura de plantas de milho (m), altura até inserção de espiga (cm) e diâmetro de colmo (mm), ambos avaliados no estágio de florescimento.....	34
Tabela 4: Área Foliar (AF) e Índice de Área Foliar (IAF) de plantas de milho no estágio de florescimento.	36
Tabela 5: Produtividade do milho em kg/ha ⁻¹ e sacas/hectare.....	39
Tabela 6: Peso de 1000 grãos (g) e comprimento (cm) e diâmetro de espigas.	41

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

N - Nitrogênio

IAF - Índice de Área Foliar

AF - Área Foliar

CH₄N₂O - Ureia

SFT - Super Fosfato Triplo

KCl - Cloreto de Potássio

FBN - Fixação Biológica de Nitrogênio

NH₄⁺ - Íon Amônio

NH₃ - Gás Amônia

NPK - Nitrogênio, Fósforo e Potássio

NO₃²⁻ - Nitrato

NO₂⁻ - Nitrito

H⁺ - Hidrogênio

Sumário

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 DESENVOLVIMENTO DA CULTURA DO MILHO	13
2.2 NITROGÊNIO.....	17
2.3 ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO MILHO	19
2.4 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.....	21
2.5 INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM <i>AZOSPIRILLUM brasiliense</i>	23
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 ATRIBUTOS AVALIADOS.....	29
3.2 CONDIÇÕES METEOROLÓGICAS AO LONGO DO CICLO	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DO MILHO	32
4.2 PARAMÊTROS DE PRODUTIVIDADE	36
5 CONCLUSÕES.....	41
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays*) apresenta grande importância dentro do cenário agrícola mundial. Originário das Américas tornou-se uma cultura cosmopolita, sendo encontrada em várias partes do globo em altitudes variando desde o nível do mar até altitudes de 3 mil metros (CIB, 2006).

No Brasil várias regiões apresentam condições de solo e clima favoráveis para o cultivo do milho. Suas formas de utilização são variadas, o que a torna uma cultura de grande importância econômica para o país (MAGALHÃES et al., 2002). A alimentação animal, consumo humano, utilização para fins industriais e até mesmo a utilização dentro de um sistema de rotação de culturas são as principais utilizações da cultura do milho.

De acordo com dados da Conab (2014) a produção estimada para a safra 2014/2015 deve ultrapassar as 77 milhões de toneladas. Em relação a safra anterior 2013/2014, estima-se uma redução de cerca de 2,5%, na qual obteve-se uma produção de cerca de 79 milhões de toneladas.

A produção por área apresentou aumentos, passando de 5057 kg/ha na safra 2013/2014 para 5082 kg/ha na safra 2014/2015. A área plantada na safra 2014/2015 foi de aproximadamente 15,3 milhões de hectares, em relação ao ano agrícola anterior 2013/2014, estima-se uma redução de 3,2%, o que corresponde a 150 mil hectares (CONAB, 2014).

Devido às variadas formas de utilização e a importância da cultura, a demanda por milho, tanto a nível nacional quanto internacional, está aumentando significativamente a cada ano, o que exige um manejo rigoroso da cultura e a busca de novas tecnologias a fim de obter rendimentos mais expressivo, com menor custo de produção e menor impacto ambiental. O uso de variedades melhoradas, adubação equilibrada conforme interpretação de uma análise de solo, controle rígido de doenças e pragas e a adoção de novas tecnologias estão entre os principais fatores que possam atender os objetivos desejados.

No quesito adubação o milho é uma das culturas mais exigentes em fertilizantes, principalmente os fertilizantes nitrogenados (OHLAND et al., 2005). Segundo Andrade et al. (2003) o nitrogênio (N) é um elemento importante dentro do metabolismo vegetal do milho pois atua diretamente na biossíntese de proteínas e clorofilas. O correto manejo da adubação nitrogenada é um dos principais fatores responsáveis pelo aumento/incremento de produtividade do milho, principalmente em anos com condições climáticas adequadas a cultura (AMADO; MIELNICZUK; CAITA, 2002), além de ser o nutriente que mais onera os custos de produção (MULLER, 2013).

A matéria orgânica do solo é o principal reservatório de N para as plantas e sua disponibilização depende da atividade biológica do solo e da taxa de mineralização. No entanto, o principal método de fornecimento de N suplementar para as plantas é através da adubação mineral, pois os solos não possuem capacidade de suprir toda a demanda da planta em todos os seus estágios fenológicos (POTTKER & WIETHOLTER, 2004). Outros métodos combinados também são eficientes para o fornecimento de N como, a utilização de forma conjunta de leguminosas em rotação e sucessão de culturas e o uso de adubos minerais e esterco (adubos orgânicos) (AMADO; MIELNICZUK; CAITA, 2002).

Um método de suprimento de N para as plantas de milho que vem sendo estudado recentemente é a utilização de bactérias diazotróficas fixadoras de Nitrogênio atmosférico do gênero *Azospirillum brasiliense*. Estas quando associadas à rizosfera das raízes das plantas de milho podem contribuir com a nutrição nitrogenada delas (FERREIRA et al., 2013) além de produzirem hormônios vegetais (auxinas, giberelinas e citocininas) que atuam no desenvolvimento radicular das plantas (MULLER et al., 2013).

Além do incremento de produtividade constam na literatura trabalhos com *Azospirillum brasiliense* concluindo a possibilidade de redução significativa do uso de adubos industrializados, gerando uma diminuição de 20% nos custos de produção (MÜLLER et al., 2012).

Conforme Reis Junior et al. (2008), diversos autores observaram em seus trabalhos um maior crescimento vegetal, aumento de matéria seca, aumento de produção de grãos e de acúmulo de N ao utilizarem bactérias do gênero *Azospirillum spp.*, principalmente quando foram usados genótipos não melhorados e com baixa disponibilidade de N no solo.

Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da utilização das bactérias do gênero *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho sob diferentes doses de Nitrogênio (N).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DESENVOLVIMENTO DA CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays*) pertence à família Gramineae/Poaceae e está entre os cereais mais cultivados do Brasil. A sua importância se deve principalmente as variadas formas de utilização e também as facilidades de propagação da planta, muitas vezes apresentando-se como um método tradicional e cultural dos produtores (MAGALHÃES et al., 2002).

A planta de milho apresenta raízes do tipo primárias e secundárias, adventícias ou de suporte. Essas raízes podem chegar a 3 metros de comprimento, devido a fatores ambientais elas concentram-se principalmente nos primeiros 30 cm de profundidade do solo. O colmo da planta do milho serve de sustentação para as folhas e atua como órgão de reserva, sendo dividido por nós e entrenós. As folhas atuam com o processo fotossintético e tem função de alimentar a planta assim que atingir estágio de duas folhas completa. Apresenta uma inflorescência masculina (pendão) e uma feminina (espiga). Os estilo-estigma que emergem da espiga recebem o grão de pólen vindo do pendão. Cada estilo-estigma é responsável por fertilizar um grão na espiga. A semente é denominada cariopse (MAGALHÃES; DURÃES; GOMIDE, 1996).

A produção de milho, tanto para o Rio Grande do Sul quanto para Brasil é dividida em Safra 1 e Safra 2. A semeadura do milho no Rio Grande do Sul para a safra 1 inicia-se nos meses de Agosto e se estende até Dezembro, enquanto que a colheita se concentra nos meses de Fevereiro até Junho. Para a Safra 2 a semeadura inicia-se nos meses de Janeiro até Março e a colheita se concentra nos meses de Maio a Setembro (CONAB, 2014).

O desenvolvimento da cultura pode ser afetado por diversos fatores, sendo os principais: o potencial genético da semente, condições edafoclimáticas, local de semeadura e o manejo adotado na lavoura (BÁRBARO; BRANCALIÃO; TICELLI, 2008). O déficit hídrico apresenta-se como um grande limitante para a produção de milho, principalmente nos períodos mais críticos da cultura que compreendem o intervalo de tempo entre o pendoamento e o enchimento de grãos. A sensibilidade ao estresse hídrico nesse período é devido aos processos fisiológicos relacionados ao enchimento de grãos e da alta taxa de transpiração devido a área foliar e da elevada carga energética (BERGAMASCHI et al., 2006). É preciso escolher a época mais adequada para a semeadura do milho de acordo com o zoneamento climático para determinada região, evitando assim, reduções de produtividade pela probabilidade de ocorrer estiagens em determinados períodos críticos da cultura.

A incidência de plantas daninhas pode ser outro fator limitante para a produtividade do milho. Estas quando presentes podem gerar competição com a cultura por nutrientes, água, luz, espaço, além de apresentarem em alguns casos efeitos alelopáticos sobre a cultura do milho. O nível de competição é decorrente das características das plantas daninhas e do período de competição. A competição afeta a disponibilidade de nutrientes e água para a cultura, altera a arquitetura da planta do milho e dificulta a disponibilidade radiação solar para a planta (KARAM; MELHORANÇA; OLIVEIRA, 2006).

Outro fator importante que pode limitar a produtividade de milho é a incidência de pragas e doenças na cultura. Nos estágios iniciais de desenvolvimento do milho já pode se observar a presença de pragas, e ao decorrer do ciclo surgir doenças. A melhor maneira de evitar esses danos é fazer o monitoramento da lavoura durante todo o ciclo, e buscar alternativas que visam à diminuição do ataque de pragas e doenças como: variedades resistentes, manejo correto de solos, rotação de culturas e realização da semeadura dentro do zoneamento climático indicado para a região.

O ciclo do milho pode ser caracterizado pelo tempo em dias que compreende a semeadura até a colheita ou quando ele atinge a maturidade fisiológica. No entanto, esse método de avaliação é bastante restritivo, pois a duração dos subperíodos do ciclo estão relacionados principalmente as variações meteorológicas que ocorrem durante o ciclo, como as variações de temperatura, déficit hídrico (GADIOLI et al., 2000) e a radiação solar (FRANÇA; BERGAMASCHI; ROSA, 1999). Uma maneira usualmente confiável de determinar as etapas de desenvolvimento da cultura é utilizar o método de graus-dia ou unidades térmicas. Por esse método caracteriza uma temperatura base, sendo que abaixo dessa o milho não se desenvolve ou se desenvolve lentamente (BRUNINI et al., 2001).

Para que a planta de milho expresse todo seu potencial produtivo ela necessita de precipitações pluviais que compreendem 400 a 600 mm por ciclo, seu consumo está entre 4 a 6 mm por dia. Nesse regime pluviométrico não se tem a necessidade do uso de irrigação. As fases de pendoamento e de grãos leitosos são as mais críticas ao estresse hídrico, caso este ocorra, será observado reduções de produtividade (FANCELLI, 2000). Dois dias de estresse hídrico no florescimento diminuem o rendimento em mais de 20% e quatro a oito diminuem em mais 50% (MAGALHÃES; DURÃES; GOMIDE, 1996).

As temperaturas mais ideais para o desenvolvimento do milho estão entre 24 e 30°C. Os valores críticos compreendem os limites inferiores e superiores dos 10 e 30°C, abaixo de 10°C o desenvolvimento da planta é praticamente nulo e acima de 30°C o rendimento de grãos é afetado devido ao consumo de metabólitos produzidos durante o dia (CRUZ et al.,

2010). Autores Magalhães; Durães; Gomide (1996) definem a temperatura ideal para o desenvolvimento de milho aquela compreendida entre 30 – 33°C.

A ocorrência de temperaturas acima de 35°C por mais de três horas/dia pode ocasionar alterações na composição protéica do grão. Isso se deve ao fato da diminuição da ação da redutase do nitrato, afetando a disponibilidade do nitrogênio transformado para a planta (FANCELLI, 2000).

No período que compreende a emissão da 4ª e 6ª folha é quando ocorre a definição do potencial de produção do milho e da área foliar. Nessa fase ocorre o término da diferenciação floral das folhas. A definição do número de fileiras da espiga está relacionado com a emissão da 7ª e 9ª folha, isso se deve as transformações que ocorrem na gema axilar (FANCELLI, 2000). Nesse estágio têm-se uma alta tolerância ao excesso de chuvas. Ao contrário, o estresse hídrico nesse período pode afetar diretamente o potencial de produção da planta. Por outro lado, excesso de chuvas e encharcamento da área são problemáticos em períodos maiores que 5 dias pois ocasionam danos irreversíveis para a planta (MAGALHÃES et al., 2002).

Para avaliar a área foliar disponível a receber radiação em relação à área de superfície de solo utiliza-se o parâmetro Índice de Área Foliar. Através desse índice é possível determinar a área foliar com potencial para absorver radiação solar. A taxa máxima de crescimento de uma planta é caracterizada pelo Índice de Área Foliar crítico, O Índice de Área Foliar crítico oscila entre os valores 3 e 5, dependendo da região, genótipo e do sistema de produção. Para o milho apresentar todo seu potencial produtivo é necessário que a planta apresente uma boa área foliar disponível para a interceptação da radiação foliar e garantir uma velocidade metabólica satisfatória (FANCELLI, 2000).

A conversão da radiação solar é afetada pelas temperaturas noturnas e diurnas. Dias e noites com temperaturas elevadas ocasionam altas taxas fotossintéticas e o milho perde em rendimento. Já dias e noites frias aumentam o custo sem vantagens para o rendimento final (MAGALHÃES; DURÃES; GOMIDE, 1996).

O rendimento de grãos é relacionado ao rendimento biológico (que seria determinado pelo total da matéria seca que são oriundos da fotossíntese e da respiração na fase de crescimento) e do índice de colheita (quantidade de grãos produzidos em relação à matéria seca total). O rendimento é afetado negativamente devido às condições enfrentadas pela planta na fase de enchimento de grãos. Altas temperaturas, tanto diurnas quanto noturnas ocasionam uma reduzida taxa de acumulação de matéria seca e redução do período de enchimento dos grãos. O rendimento de grãos está relacionado ao índice de área foliar, se este compreender os índices indicados pode-se observar aumentos no rendimento de grãos

(FANCELLI, 2000). Em geral a fase de enchimento de grãos está em torno de 50 – 55 dias após a fertilização e pode ser afetada de acordo com a cultivar e fatores ambientais (MAGALHÃES; DURÃES; GOMIDE, 1996).

A obtenção de altos rendimentos no Brasil também leva em conta fatores como a população de plantas e o espaçamento entre elas. Os espaçamentos entre linhas mais utilizados estão em torno de 80 - 90 cm. A tendência na redução de espaçamento para 45 - 50 cm são atribuídas a algumas vantagens: melhor distribuição das plantas na área e melhor rendimento de grãos, aumento da eficiência de utilização dos recursos do meio, melhor controle de plantas daninhas, diminuição da erosão e melhor qualidade de sementeira (CRUZ et al., 2009).

A densidade de plantas mais recomendada varia entre 40 e 80 mil plantas por hectare. Essa variação é dependente de fatores como a disponibilidade hídrica na região de cultivo, da fertilidade do solo, da época de sementeira e do espaçamento entrelinhas (CRUZ et al., 2009).

A adubação fosfatada e potássica na cultura do milho devem ser realizadas considerando alguns fatores como: fertilidade atual do solo, marcha de absorção dos nutrientes, histórico da gleba e das condições climáticas observadas na região de sementeira da cultura (FANCELLI, 2010).

Apesar da absorção de fósforo nos estádios iniciais da planta ser baixo, as quantidades que circulam na planta até o estágio V6 são altas. Próximo à fase de maturação fisiológica ocorre translocação do fósforo das partes vegetativas da planta para os grãos em processo de enchimento (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003). Dessa forma a disponibilidade de fósforo para a planta do milho nos estágios iniciais de desenvolvimento é prática obrigatória para a obtenção de elevados rendimentos (FANCELLI, 2010).

Em relação à adubação potássica, quando for em excesso, pode afetar a arquitetura, crescimento e a germinação da planta de milho. Devem-se manter cuidados com a aplicação em potássio a lanço devido à possibilidade de não fornecer a quantidade de nutriente adequada para a planta. Por outro lado, altas doses em aplicações a linha podem comprometer o sistema radicular (SALTON et al., 2002). Recomenda-se ao realizar a adubação fosfatada na cultura do milho manter uma distância de 8 cm entre a semente e o fertilizante e evitar doses excessivas. Os requisitos mencionados nesse trabalho para a recomendação de adubação potássica devem ser rigorosamente obedecidos (FANCELLI, 2010).

2.2 NITROGÊNIO

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes para todos os seres vivos. Para as plantas pode ser um fator tão limitante quanto à água para o crescimento e produtividade das mesmas (DINIZ, 2009).

Cerca de 78% da atmosfera terrestre é composta por Nitrogênio, apesar de que na forma gasosa N_2 ele não está disponível para a grande maioria das plantas. Para este ser absorvido pelas plantas ele tem que estar na forma iônica (NH_4^+ ou NO_3^-) (DINIZ, 2009). Nesse caso é necessário que a tripla ligação seja rompida para que assim o nitrogênio esteja na forma de íons amônio (REIS & TEIXEIRA, 2006).

No metabolismo das plantas o nitrogênio atua como constituinte das moléculas de proteínas, coenzimas, ácido nucléicos, citocromos e clorofila (FERREIRA et al., 2001). Pelo fato de ser um constituinte das proteínas sua presença nas plantas está diretamente relacionada com a produtividade das mesmas e com o seu desenvolvimento (MORAIS, 2012).

A presença de nitrogênio nas plantas tem influência sobre o crescimento das mesmas, sob a cor verde escura das folhas, crescimento das raízes e a melhor absorção de outros nutrientes do solo. Sua deficiência pode ser diagnosticada nas folhas com coloração amareladas, folhas pequenas, caules finos e pouca ramificação. No milho a deficiência de nitrogênio pode ocasionar espigas menores e grãos das extremidades da espiga vazios (SEGINK, 2003).

O Nitrogênio pode ser disponibilizado ao solo pela decomposição da matéria orgânica, pela incorporação de matérias inorgânicas, pela fixação biológica e pela fixação por descargas elétricas. Suas perdas podem ser por lixiviação, volatilização em superfície (SANGOI et al., 2003), perdas por desnitrificação ou então ser absorvido pelas plantas (MORAIS, 2012).

Perdas por lixiviação estão relacionadas ao movimento do N no solo através da água principalmente na forma de nitrato (SANGOI et al., 2003). A forma do nitrogênio mais lixiviada é o nitrato, após o amônio e por fim o N orgânico. No entanto, a lixiviação de determinada substância depende da quantidade disponível dela no solo (GONÇALVES; CERETTA; BASSO, 2000).

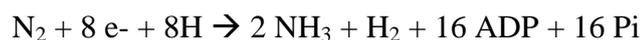
As perdas por volatilização ocorrem principalmente na forma de amônia e em solos que apresentem grandes quantidades de resíduos culturais sob a superfície (SANGOI et al., 2003).

A desnitrificação é um processo em que as bactérias convertem o NO_3^- para N na forma de gás que é então perdido para a atmosfera. Nesse caso, as bactérias desnitrificantes

utilizam o NO_3^- ao invés do oxigênio nos processos metabólicos. A desnitrificação é influenciada em solos alagados e onde há um grande acúmulo de matéria orgânica fornecendo energia para as bactérias (CARVALHO & ZABOT, 2012).

O processo de quebra da tríplice ligação do N_2 para as formas iônicas (NH_4^+ ou NO_3^{2-}) pode ocorrer pela fixação espontânea, industrial ou fixação biológica (DINIZ, 2009). De acordo com Kim & Rees (1994) a fixação industrial pode ser caracterizada pelo processo Haber-Bosch. Nesse processo necessita-se uma energia extremamente alta de ativação. Para a síntese de amônia utiliza-se um catalizador à base de ferro e temperaturas altas entre 300 a 500 °C e pressões superiores a 300 atm (QUADROS, 2009)

Na natureza organismos são capazes de assimilar o N atmosférico e converte-lo em NH_3 , esse processo é conhecido como fixação biológica de nitrogênio FBN. Segundo Diniz (2009) esse processo é realizado graças a uma enzima denominada Nitrogenase e caracteriza a seguinte reação:



A fixação biológica de nitrogênio é restrita aos organismos Procariotos e é caracterizada como um dos principais processos de incorporação do nitrogênio ao ecossistema. A promoção de um equilíbrio ao ecossistema e a redução da adubação nitrogenada que pode ocasionar contaminação das águas e de outros vegetais estão entre seus principais benefícios (MARIN et al., 2003).

A absorção do nitrogênio pelo milho pode ser pela forma Nítrica (NO_3) que é observado nos estádios finais de desenvolvimento do milho ou na forma amoniacal (NH_4) que é observada nos estádios iniciais (TEIXEIRA FILHO et al., 2010).

De acordo com Imsande & Touraine (1994) a absorção de nitrato pelas plantas de milho pode ser influenciada por dois fatores. Um deles seriam as respostas temporais a modificações de fatores ambientais (intensidade de luz, temperatura ou condições de estresse) e o outro fator seria as variações que ocorrem durante a ontogenia.

A Ureia (44% N) é um dos fertilizantes nitrogenados mais utilizados no Brasil devido ao fato de causar menor acidificação ao solo e possuir menor valor comercial em comparação aos outros fertilizantes nitrogenados (SANTOS, 2013). No entanto, apresenta restrições, pois pode apresentar perdas por volatilização de NH_3 . Já o Sulfato de Amônio não apresenta perdas por volatilização caso o pH for menor do que 7, mas sua eficiência é restrita pela lixiviação de nitratos (TEIXEIRA FILHO et al., 2010).

O excesso de nitrogênio disponível para as plantas pode ocasionar efeitos colaterais nas mesmas e no solo, ocasionando um aumento de pH e gerando uma diminuição da absorção de outros nutrientes presentes no solo, como por exemplo: ferro, cobre, zinco e níquel (GUEDES, 2011).

2.3 ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO MILHO

O Nitrogênio é um dos elementos do solo mais complexos devido as suas transformações, além de ao comparar-se aos adubos potássicos e fosfatos é um dos elementos que mais envolve custos de produção, dessa forma, deve-se explorar amplamente o conhecimento sobre adubação nitrogenada na cultura do milho (CRUZ & CABEZAS, 1999). A época de aplicação, dose a ser aplicada, tipo de fertilizante nitrogenado a ser utilizado e condições meteorológicas são fatores que devem ser levados em conta para melhores resultados desta adubação e evitar possíveis perdas por lixiviação, volatilização e desnitrificação.

A época de aplicação do Nitrogênio no milho tem gerado controvérsias entre autores devido as suas transformações no solo (DE ANDRADE MEIRA et al., 2009). De acordo com França; Coelho; Bahia Filho (1994), o período que compreende os 40 e 60 dias do ciclo do milho são os períodos mais críticos e de absorção mais intensa. Para De Andrade Meira et al. (2009) nos estádios V4 a V6 de desenvolvimento do milho são os períodos em que a planta passa por diferenciações e é quando ocorre a definição de produtividade necessitando nesse período uma adequada disponibilidade de nitrogênio para a planta.

Autores Pottker & Wietholter (2004) em seus trabalhos reforçam a importância de parcelar a adubação nitrogenada, sendo parte no período da semeadura e o restante em cobertura quando a planta de milho atingir de 4 a 8 folhas, enquanto que Coelho et al. (1991) recomenda a adubação toda em uma única aplicação no momento de semeadura, desde que as doses não ultrapassem 100 kg de N por hectare.

No Brasil costuma-se utilizar o parcelamento da adubação nitrogenada. Esse método pode gerar benefícios como: melhor eficiência do uso do nitrogênio e a diminuição das perdas por lixiviação (COELHO et al., 2006). No entanto, França; Coelho; Bahia Filho (1994), ressaltam a importância do conhecimento de fatores que afetam a respostas de adubação ao realizar o parcelamento da aplicação de adubos nitrogenados no milho. Sendo estes: rendimento de grãos esperado e demanda da cultura.

Para Ritchie; Hanway; Benson (1993) ainda que não exigido em grandes quantidades nos estágios iniciais do milho, a adubação nitrogenada pode promover um maior arranque de crescimento de raízes na fase inicial de desenvolvimento.

Segundo a Comissão de Química e Fertilidade (2004) para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina no cultivo do milho sob plantio convencional recomenda-se aplicar de 10 a 30 kg de N por hectare no momento da sementeira e o restante em cobertura quando as plantas estiverem entre 4 e 8 folhas. No sistema plantio direto indica-se 20 a 30 kg de N por hectare no momento da sementeira quando este for feito sob gramíneas e de 10 a 15 kg de N por hectare no momento da sementeira quando este for feito sob leguminosas, o restante da adubação será parcelada quando as plantas atingirem de 4 a 8 folhas para ambos os sistemas de plantio.

Uma limitação para a adubação nitrogenada no milho é a falta de um método de análise calibrado ou laboratorial que possibilite identificar um valor de fertilidade para esse nutriente. Atualmente os valores de adubação nitrogenada a serem utilizados são baseados em curvas de resposta, histórico da área, produtividade esperada (FRANÇA; COELHO; BAHIA FILHO, 1994) e matéria orgânica (BORTOLINI et al., 2001).

O excesso de adubação nitrogenada pode ocasionar anomalias para as plantas de milho, efeitos colaterais para as pessoas e danos ao meio ambiente. De acordo com Hungria; Campo; Mendes (2007), muitas doenças e problemas respiratórios em alguns países da Europa estão sendo relacionadas com o consumo de águas contaminadas com nitrato. Além das perdas por volatilização, lixiviação e desnitrificação pode também ocorrer a oxidação de óxidos de N, como o Óxido Nitroso.

O óxido nitroso está ligado à destruição da cama de ozônio e contribui diretamente para o efeito estufa (GIACOMINI et al., 2006). Segundo Santos (2013), a liberação de óxido nitroso para a atmosfera pode ser por formas naturais, como por exemplo: o oceano e a ação de bactérias, e também pela ação do homem, como: os tratamentos de esgotos, processos industriais e a utilização de fertilizantes nitrogenados.

As aplicações de nitrogênio para a cultura do milho podem ser via solo (sulco ou a lanço) ou por via fertirrigação. As via solo buscam uma melhor aproximação do nitrogênio com as raízes das plantas, nesse caso, o nitrogênio pode ser aplicado unicamente ou misturado junto com os demais fertilizantes que compõem a fórmula NPK e então distribuídos pela máquina semeadora (LOPES, 1999). O mesmo é relatado por Coelho (2010) que define como os principais métodos de aplicação de nitrogênio a aplicação via sulco, via lanço ou cobertura e por via de irrigação.

Ao aplicar a adubação nitrogenada no milho em forma de uréia e não tiver probabilidades de chuvas nos próximos dias à aplicação via sulco é um método bastante eficiente, pois ao se aplicar em dias secos pode ocorrer à formação amônia e esta ser liberada para a atmosfera (LARA CABEZAS et al., 2000).

A aplicação via solo pode ocorrer a lanço sem incorporação, a lanço com incorporação, via linha, ou em covas. Em muitos casos podem-se encontrar problemas em relação à uniformidade de distribuição, pois as quantidade de NPK a serem distribuída podem ser bastante restritas (LOPES, 1999).

A fertirrigação é um método mais utilizado para fruticultura, olericultura e cafeicultura. Apresenta como vantagem principal um fácil controle da quantidade do nutriente a ser destinada para tal cultura de acordo com as exigências das mesmas (LOPES, 1999).

2.4 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

O Nitrogênio é um dos principais e mais abundantes elementos presentes na atmosfera. Apesar da sua alta disponibilidade ele não pode ser utilizado por muitos organismos na sua forma gasosa N_2 , dessa forma, precisa passar por uma reação de redução de N atmosférico para Amônia NH_3 (QUADROS, 2009).

Na natureza um restrito grupo de organismos diazotróficos é capaz de realizar a fixação biológica de nitrogênio e essa redução do N_2 para NH_3 . Esse processo de redução é realizado devido a ação da enzima nitrogenase (DINIZ, 2009), ocasionando a quebra da tripla ligação do N_2 . Essas bactérias diazotróficas podem ser classificadas como sendo associativas, endofíticas ou simbióticas (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

A fixação biológica de nitrogênio ocorre principalmente em associações simbióticas das plantas leguminosas com os gêneros *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* e *Rhizobium*. Nesse caso, são formados nódulos nas raízes das plantas e são incorporados íons de hidrogênio H^+ a amônia sendo transformados em íons amônio NH_4^+ (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

Em termos de fonte de nitrogênio para a cultura da soja a fixação biológica de nitrogênio apresenta-se como um dos principais métodos, com destaque para as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* que colonizam as raízes da planta de soja, infectam via pelos radiculares e formam nódulos (BÁRBARO; BRANCALIÃO; TICELLI, 2008). No entanto, como a soja é uma leguminosa e foi introduzida no Brasil, a ocorrência natural dessa bactéria

não é possível, sendo assim necessário introduzir estirpes no solo (LIMA; LOPES; LEMOS, 1998).

Se o nitrogênio for disponibilizado para as plantas via fertilizante a facilidade de assimilação pela planta são maiores, pois este já está em uma forma prontamente disponível. Isso acaba gerando uma diminuição da eficiência da fixação biológica, pelo fato de que o gasto energético da planta é maior para a fixação biológica do que para a absorção de fertilizantes (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007).

Para as gramíneas existe um grande interesse na fixação biológica de nitrogênio pelo fato destas terem um melhor aproveitamento na absorção de água, melhor eficiência fotossintética e principalmente por possuírem um sistema radicular fasciculado, apresentando vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas (DOBEREINER, 1992 apud BÁRBARO; BRANCALIÃO; TICELLI, 2008).

Na fixação biológica de nitrogênio em gramíneas ganha-se destaque bactérias associativas, principalmente dos gêneros *Azospirillum spp.* e *Azotobacter spp.* Nesse caso ocorre também a conversão do N₂ para amônia, no entanto, essas bactérias secretam somente uma parte no nitrogênio fixado para a planta. A ação das bactérias contribui com um aporte adicional de nitrogênio para a planta, suprimindo parcialmente as necessidades das plantas (HUNGRIA, 2011).

O gênero *Azospirillum spp.* caracterizam-se por ser bactérias Gram-negativas, em forma de bastonete e usualmente uniflageladas, apresentando um movimento vibróide característico. Apresentam vida livre e são encontradas em solos de clima tropical e subtropical. Apresentam associações com raízes de gramíneas, como por exemplo: milho, arroz e trigo. As espécies mais conhecidas e estudadas são *Azospirillum brasiliense* e *Azospirillum lipoferum* (QUADROS, 2009).

A autora Hungria (2011) relata que vários trabalhos demonstram que a utilização de *Azospirillum spp.* promoveu efeitos em plantas de milho como: ganho de peso, aumento do conteúdo de N nas folhas, sementes, flores, início precoce do espigamento, aumento do número de espigas e número de grãos, maior altura da planta, maior área foliar, maior índice de área foliar e maior taxa de germinação.

As bactérias *Azospirillum spp.* fazem parte da classificação de bactérias promotoras de crescimento BPC. Essas BPC colonizam raízes e outros tecidos vegetais e promovem o crescimento da planta através da fixação biológica de nitrogênio e da produção de hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas, que influenciam diretamente no crescimento de

raízes e conseqüentemente maior absorção de nutrientes e água (PEOPLES et al., 1995, apud REIS, 2007; HUNGRIA, 2011).

2.5 INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM *AZOSPIRILLUM brasiliense*

Com a evolução da produção de milho, tanto a nível nacional quanto mundial, procura-se cada vez mais formas de produção e de melhor aproveitamento dos recursos disponíveis. A fixação biológica de nitrogênio no milho está em ascensão, junto disso um crescimento considerável de estudos realizados nessa área. Muitos trabalhos já tem demonstrado aumento de rendimento de massa seca, produtividade e o acúmulo de nutrientes por plantas inoculadas com *Azospirillum spp* (REIS JUNIOR et al., 2008).

Ao se inocular sementes de milho procura-se o máximo de presença dessas bactérias junto ao sistema radicular. Além de contribuírem para a fixação biológica do nitrogênio, influenciam no crescimento radicular devido as suas características de serem bactérias promotoras de crescimento (CAVALLET et al., 2000). Ao realizar a inoculação ocorre mudança na estrutura radicular da planta aumentando o número de radículas e aumento do diâmetro médio das raízes. As bactérias promotoras de crescimento produzem auxinas, giberelinas e citocininas comprovando que dessa forma a inoculação com bactérias envolve outros processos mais complexos que a fixação biológica de nitrogênio (BÁRBARO; BRANCALIÃO; TICELLI, 2008).

Em estudos realizados sobre a eficiência do *Azospirillum brasiliense* no milho Cavallet et al. (2000), observou um incremento de produtividade de 30% nos tratamentos em que as doses de nitrogênio disponibilizado para as plantas eram maiores. A eficiência da planta de milho em aumentar a produtividade com a presença do *Azospirillum brasiliense* nos tratamentos de maior adubação comprova as características já mencionadas nesse trabalho das bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum spp*. Essas não tem capacidade em atender toda a demanda de nitrogênio disponível para a planta de milho, mas sim, atuam como um complemento para uma melhor absorção do nitrogênio disponível.

Em trabalhos realizados por Zamariolli & Galvão (2012), a presença de *Azospirillum brasiliense* no milho promoveu aumento nos teores de nitrogênio da raiz, na parte aérea e na produtividade, mas sem aumento nos teores de nitrogênio no grão. Com a aplicação do inoculante no sulco de semeadura o mesmo autor observou um aumento de 14% de produtividade em relação aos tratamentos sem inoculação.

Em alguns estudos realizados por autores não foram observados aumentos de produtividade com a inoculação de *Azospirillum brasiliense*, como por exemplo os trabalhos realizados por Bassi (2013), em que não resultou um aumento de produtividade, tanto na forma de inoculação via semente quanto via sulco, mas influenciou apenas na altura de plantas. O mesmo foi observado nos trabalhos realizados por Repke (2013).

A inoculação com *Azospirillum brasiliense* ocorre na semente do milho, e em alguns casos no sulco. A inoculação deve ser similar a aplicação de *bradyrhizobium* na cultura da soja. Utiliza-se o produto na forma líquida ou sólida e como se trata de bactérias vivas devem ser tomados cuidados evitando expor o milho inoculado no sol em altas temperaturas, evitar o contato com produtos químicos e realizar a semeadura do milho no máximo em 24 horas após a inoculação (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007). Não se tem muitos estudos sobre a sobrevivência dessas bactérias na ausência de um hospedeiro (REPKE, 2013).

Para que as bactérias desempenhem todo seu potencial de fixação de nitrogênio e promoção do crescimento, elas são altamente dependentes de fatores externos bióticos e ambientais. O genótipo da planta, microbiologia do solo e a quantidade de nitrogênio que está sendo disponibilizada para a planta estão entre os principais fatores (ROESCH et al., 2006).

Os fatores que afetam a eficiência das bactérias fixadoras de nitrogênio ainda não estão bem esclarecidos. Para Arsac et al. (1990) a concentração da bactéria na solução do inoculante apresenta grande importância para a sua eficiência. Segundo o mesmo a dose ótima é de aproximadamente 10 milhões de células viáveis ml^{-1} . Caso apresentem níveis acima se pode observar efeitos inibitórios de crescimento de plantas inoculadas.

A resposta positiva das bactérias no desenvolvimento de uma cultura pode ser atribuída a vários fatores, como por exemplo: proteção contra fitopatógenos, alteração da atividade metabólica (BASHAN; HOLGUIN; BASHAN, 2004), solubilização de fosfatos, aumento a resistência ao estresse, a fixação biológica em questão e também as substâncias promotoras de crescimento (GRAY & SMITH, 2005).

Entretanto, a adição de fertilizantes nitrogenados em excesso pode vir a alterar a diversidade biológica das bactérias no solo, diminuindo a proporção de diazotróficos (BERGAMASCHI, 2006).

De acordo com Abdala; Prochnow; Fancelli (2008) mesmo observando vantagens com a utilização das bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho existe ainda uma necessidade constante de vencer alguns desafios para a completa difusão da tecnologia. Desafios relacionados a diversos fatores são citados. Fatores genéticos como: a seleção de melhores estirpes de bactérias e mais competitivas com outras

bactérias do solo, maior poder de fixação e que sejam menos sensíveis a fatores ambientais do solo. Fatores relacionados ao produto como: a concentração e dose do inoculante, tempo de prateleira, parâmetros de fermentação, embalagem e condições de armazenamento. Fatores agronômicos como: melhoramento do milho, competitividade do inoculante em relação as estirpes do solo, uso do inoculante em conjunto com outros produtos utilizados na semeadura, condições de solo que afetam a fixação de nitrogênio e número ideal de bactérias por semente. Fatores relacionados ao agricultor como: a confiança e conhecimento na aplicação da técnica e o número ideal de bactérias por semente.

É evidente a necessidade de pesquisas na área para obter resultados mais correspondentes entre os autores. Para Quadros (2009) estudos também devem selecionar bactérias mais eficientes, com maior potencial de fixação de N e competição com outros microrganismos do solo, além de selecionar variedades de milho mais eficientes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para atender os objetivos propostos, montou-se um experimento a campo. O experimento foi conduzido na área experimental da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS campus de Cerro Largo - RS. O local apresenta coordenadas de 28° 08' 26,63" de latitude, 54° 45' 38,29" de longitude e altitude de 258 metros em relação ao nível do mar (GOOGLE EARTH, 2015). O clima é classificado como subtropical úmido, cfa, de acordo com a classificação de KÖPPEN (KUINCHTNER & BURIOL, 2001).

O tipo de solo no local de implantação é classificado como Latossolo Vermelho (EMBRAPA, 2013) com textura argilosa. A precipitação média anual fica entre 1800 a 1900 mm (CEMETRS, 2013).

No experimento foram testados 9 diferentes tratamentos associando a inoculação com um produto comercial a base de bactérias *Azospirillum brasiliense* e diferentes doses de nitrogênio. Cada tratamento possuiu 4 repetições, de acordo com o delineamento de blocos ao acaso (DBC), totalizando 36 parcelas divididas em 4 blocos. Cada parcela possui tamanho de 3 x 10 metros, totalizando 30 metros quadrados. A tabela 1 apresenta os diferentes tratamentos avaliados.

A cultura antecessora ao milho no local do experimento era o trigo, sendo que para sua implantação foi realizada uma análise química do solo no início do ano de 2014 conforme mostra a tabela 2. A adubação para o cultivo do milho foi baseada na interpretação dessa mesma análise de solo considerando o milho como segunda cultura.

Tabela 1: Tratamentos e condições avaliadas no experimento.

Tratamentos	Condição Avaliada
T1	Testemunha (sem aplicação de nitrogênio)
T2	Apenas inoculação (sem N)
T3	Inoculação + N na semeadura (30 kg/ha)
T4	Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)
T5	Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)
T6	N na semeadura (30 kg/ha)
T7	N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)
T8	N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)
T9	Inoculação (Dose dobrada do inoculante) + N na semeadura (30 kg/ha)

Fonte: Elaborada pelo autor.

Após a colheita do trigo a área esteve em pousio. Antes da implantação do milho foi realizada uma roçada à fim de eliminar as plantas daninhas e fazer com que a palhada do trigo ficasse acamada sobre o solo.

Na semeadura do milho a adubação com fósforo e potássio foi realizada no momento da semeadura. A adubação nitrogenada, conforme o tratamento, parte foi realizada no momento da semeadura e o restante em cobertura. Para determinar os valores baseou-se na interpretação da análise de solo química realizada no início de 2014 para a cultura antecessora na área e considerando a produtividade esperada para o milho de 9 toneladas por hectare.

Tabela 2: Resultados da análise química do solo realizada no início de 2014 na área de implantação do experimento.

Parâmetros	Teor
pH em água (1:1)	5,2
Al (%)	0,8
Ca (Cmol/dm ³)	9,3
Mg (Cmol/dm ³)	2,6
Al (Cmol/dm ³)	0,1
H + Al (Cmol/dm ³)	3,9
CTC pH 7 (Cmol/dm ³)	16,8
V (%)	76,9
Argila (%)	57
M.O. (%)	3,0
Índice SMP	6,1
S (mg/dm ³)	16,0
P Mehlich (mg/dm ³)	18,9
K (mg/dm ³)	384
Cu (mg/dm ³)	16,8
Zn (mg/dm ³)	5,7
B (mg/dm ³)	0,3

Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

Para a adubação nitrogenada utilizou-se 120 kg/ha de nitrogênio, dividida em 30 N na semente e o restante (30 ou 90 kg/ha N) em cobertura de acordo com o tratamento indicado. O fertilizante nitrogenado utilizado foi a uréia $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ (44% N). Na adubação fosfatada utilizou-se 120 kg/ha de fósforo, sendo o fertilizante utilizado o Super Fosfato Triplo SFT (44% P) e para a adubação potássica utilizou-se 80 kg/ha de potássio, sendo o fertilizante utilizado o Cloreto de Potássio KCl (58%K). Os respectivos fertilizantes foram pesados individualmente, misturados e divididos de acordo com a área de cada parcela para posterior distribuição.

No processo de sementeira (Figura 1) foram feitos os sulcos na área com o auxílio de uma máquina semeadora, após isso os fertilizantes foram distribuídos manualmente na linha considerando a divisão: hectare – parcela – linha – meia linha, obtendo assim uma melhor homogeneidade na distribuição. Para a distribuição das sementes foram utilizadas cordas de 10 metros de comprimento marcadas a cada 25 cm. As cordas foram colocadas sob a linha do sulco e a cada marco de 25 cm foi depositada uma semente manualmente. Cada parcela apresentava 7 linhas de 10 metros de comprimento com 4 sementes de milho por metro, gerando uma média de 93 mil sementes por hectare.

A cultivar de milho utilizada foi a 2B 688 PW da empresa DowAgroSciences. Apresenta como características ciclo precoce, híbrido triplo e grãos semiduro alaranjado, sendo indicado para grãos e silagem.

Figura 1: Processo de Sementeira Manual do Milho.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Nos tratamentos que foram utilizados a inoculação com o inoculante a base de *Azospirillum brasiliense* a inoculação foi realizada momentos antes da sementeira, utilizando 100 ml do produto para cada 20 kg de sementes, conforme recomendação do fabricante, exceto no tratamento em que se utilizou dose dobrada do inoculante, nesse caso, utilizou-se 200 ml do produto comercial. O inoculante utilizado é denominado Simbiose Maíz, produzido

pela empresa Simbiose-Agro de Cruz Alta – RS. A concentração é de 5×10^8 UFC por mL do produto comercial. As cepas Ab-V5 e Ab-V6 constituem o inoculante.

A semeadura do milho foi realizada nos dias 12 e 13 de janeiro de 2015 de acordo com o zoneamento climático para a cultura do milho classificada como safra 2 (safrinha) no estado do Rio Grande do Sul (CONAB, 2014).

A aplicação da adubação nitrogenada (Figura 2) em cobertura foi realizada 18 dias após a semeadura quando as plantas se encontravam em estágio V3 (PÖTKER & WIETHÖLTER, 2004).

A cultivar de milho utilizada é caracterizada como resistente ao ataque da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*). No entanto, foi necessária a aplicação de um inseticida com o objetivo de realizar o controle da praga que ultrapassou o nível de dano à cultura (Figura 3). O produto utilizado é denominado pelo nome comercial de Lannate BR, sendo um inseticida sistêmico e de contato, do grupo químico Metilcarbamato de Oxima. A aplicação foi realizada em jato dirigido utilizando um volume de calda de 300 L/ha.

Figura 2: Aplicação de adubação nitrogenada no milho.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 3: Danos à planta de milho devido ao ataque da Lagarta do Cartucho.



Fonte: Elaborada pelo autor.

3.1 ATRIBUTOS AVALIADOS

Para observar as respostas das bactérias fixadoras de nitrogênio diversos atributos e características agronômicas foram avaliados no milho: altura de plantas, altura até inserção de espiga, diâmetro de colmo, área foliar, índice de área foliar, produtividade, peso de 1000 grãos e comprimento e diâmetro de espigas.

As avaliações de altura de planta, altura até inserção da primeira espiga, diâmetro de colmo, área foliar e índice de área foliar foram realizadas quando as plantas atingiram o estágio de florescimento, compreendendo a datas de 19 e 20 de março (66 dias após semeadura). Para isso foram avaliadas 4 plantas por parcela, sendo escolhidas aleatoriamente entre as 3 linhas centrais da parcela.

Para a avaliação de altura de planta foi utilizada uma trena métrica, sendo as medidas feitas desde a superfície do solo até a inserção (aurícula) da última folha formada (verdadeira). Para a medição até altura de inserção da primeira espiga foi realizado o mesmo procedimento, utilizando uma trena métrica, medindo desde a superfície do solo até a base da primeira espiga.

Os diâmetros de colmo foram medidos utilizando um paquímetro digital. As medições foram feitas a aproximadamente 15 cm do solo, realizando duas medições sob dois lados do colmo e, obtendo a média entre os valores.

A determinação da área foliar (AF) foi realizada utilizando uma trena métrica e efetuando a medição do comprimento (C) e largura das folhas (L), após isso a área de cada folha foi calculada com a seguinte fórmula matemática (SANGOI et al., 2011):

$$AF = C \times L \times 0,75$$

Foram medidas todas as folhas de 4 plantas presentes nas 3 linhas centrais da parcela e que apresentassem mais de 50% de área foliar, assim, foi calculada a área foliar individual somando-se as áreas de todas as folhas da planta.

O índice de área foliar (IAF) foi determinado pela relação entre a área foliar e o espaço ocupado pelas plantas em cada tratamento conforme a seguinte equação:

$IAF = AF / E_1 \times E_2$ sendo AF a área foliar em cm^2 , E_1 e E_2 , representam o espaçamento entre plantas e entre linhas, respectivamente (SOARES, 2003).

Ao atingirem o estágio de maturação, compreendendo 148 dias após a semeadura foram avaliados os atributos de produtividade, peso de 1000 grãos e tamanho de espiga.

Na determinação de produtividade foram realizadas a colheita das espigas de milho nas 3 linhas centrais da parcela e com 3 metros de comprimentos, totalizando uma área de 4,5 metros quadrados, respeitando as duas linhas laterais de bordadura. Após isso foram feitas a debulha manual das espigas e realizada a pesagens dos grãos, ajustando a umidade a 13% e obtendo a produtividade final em kg/ha.

Na determinação da massa de 1000 grãos foram contados 100 grãos por parcela, após isso pesados e realizado a correção de umidade a 13%. Posteriormente foram multiplicados por 10 para obter o valor correspondente a 1000 grãos Para a avaliação do tamanho de espiga foi utilizado um paquímetro medindo o comprimento entre as extremidades da espiga e também o diâmetro no terço médio da espiga.

Após realizar todas as avaliações nos diferentes tratamentos, contagens e determinações, foi realizada a análise de variância dos dados e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott. Foi utilizado como auxílio o programa computacional estatístico SASM-Agri (CANTERI et al., 2001).

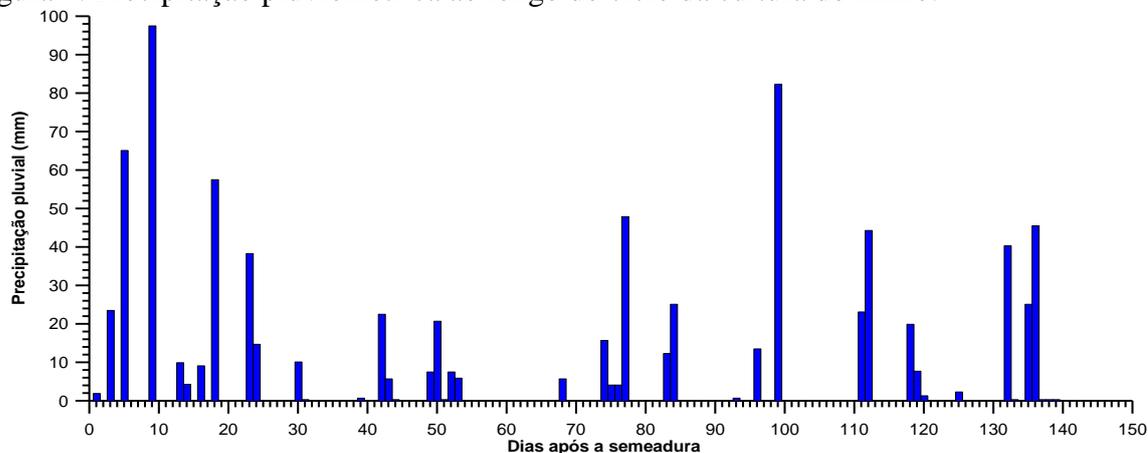
3.2 CONDIÇÕES METEOROLÓGICAS AO LONGO DO CICLO

O ano agrícola de 2015 esteve dentro dos padrões esperados para produtividades satisfatórias de milho 2ª safra, sendo a produtividade média para a região sul de 5.698 kg ha⁻¹ (CONAB, 2015). Para o experimento obteve-se como produtividade média 8669,1 kg ha⁻¹ estando acima da média da região, devido principalmente às condições climáticas adequadas para o bom desenvolvimento da cultura.

Os dados meteorológicos foram obtidos na estação meteorológica da Universidade Federal da Fronteira Sul campus de Cerro Largo – RS. Os parâmetros são avaliados automaticamente pela estação entre 10 e 10 minutos e armazenadas no sistema interno estando disponível para utilização. A figura 4 apresenta os dados de precipitação diária (mm) e figura 5 os dados de umidade relativa do ar (%) e temperatura média do ar (°C) durante o período de 12 de janeiro de 2015 até 09 de junho de 2015, período este que compreendeu todo o ciclo da cultura. A precipitação acumulada durante os 148 dias de ciclo da cultura foi de 831,6 mm estando acima dos 400 a 600 mm indicados para um bom desenvolvimento da cultura do milho conforme Fancelli (2000).

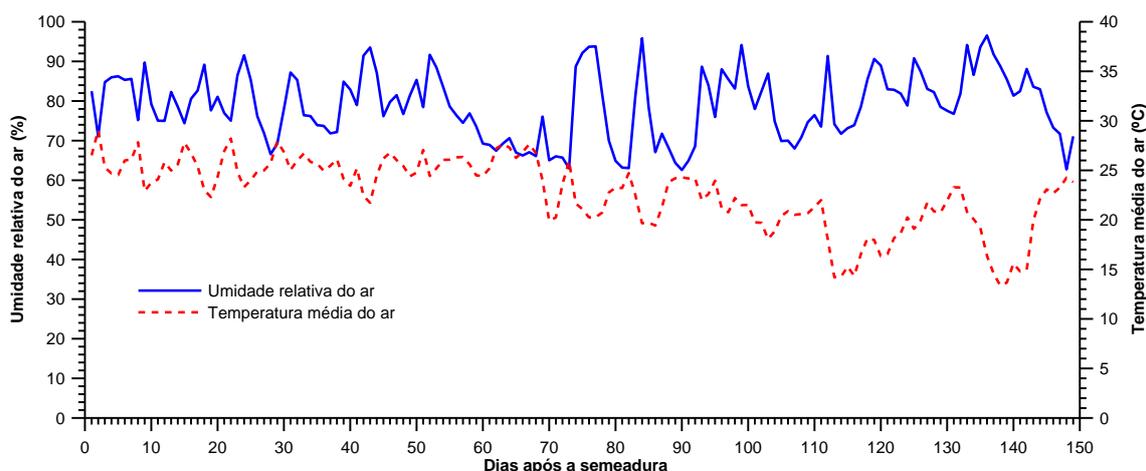
De acordo com os dados obtidos para os meses de janeiro e fevereiro as precipitações pluviométricas atingiram os valores de 269,6 e 93,6 mm respectivamente, e para o mês de março 120,6 mm. Para os meses abril e maio, meses que coincidiram com os estágios reprodutivos do milho as precipitações compreenderam os valores de 135,2 e 212,4 mm respectivamente. Precipitações não elevadas para os estágios de reprodutivos do milho são importantes a fim de evitar doenças fúngicas nas folhas e nas espigas interferindo diretamente no desenvolvimento da mesma, produtividade e qualidade dos grãos.

Figura 4: Precipitação pluviométrica ao longo do ciclo da cultura do milho.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 5: Temperatura e umidade relativa ao longo do ciclo da cultura do milho.



Fonte: Elaborada pelo autor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DO MILHO

As maiores alturas de plantas (Figura 6) vieram consequentes dos tratamentos com as maiores doses de N, independentemente da presença de inoculação (Tabela 4).

Resultados similares foram encontrados em trabalhos realizados por Repke (2013) e Pedrinho et al. (2010), aonde, ao avaliar o efeito de inoculação com *Azospirillum brasiliense* encontraram maiores alturas de plantas resultantes dos maiores teores de adubação nitrogenada aliados a inoculação. Maiores alturas de plantas provindas de maiores doses de N comprovam-se também em trabalhos realizados por Silva; Oliveira; Silva, (2003) no qual constataram melhor desenvolvimento da cultura conforme o aumento das doses de nitrogênio.

Trabalhos executados por Bassi (2013) também evidenciaram resultados significativos de aumento de altura de plantas com inoculação em maiores doses de adubação nitrogenada. Em seu trabalho para a ausência de inoculação seriam necessários 291 kg/N por hectare para as plantas apresentarem maior eficiência técnica de 2,18 m de altura, enquanto que com a presença de inoculação apenas 214 kg ha/N seriam suficientes para atingir valores de 2,16 metros de altura.

Já em trabalhos realizados por Cavallet et al. (2000) não foram encontradas respostas positivas da inoculação com *Azospirillum brasiliense* na altura de plantas, sendo que as plantas apresentaram uma altura média de 221 cm. Resultados similares a ele foram encontrados também por Bartchechen et al. (2010) e Vorpagel (2010).

A ausência de efeitos significativos sobre a altura de plantas entre os tratamentos com maiores doses de N e a presença de inoculação não era esperado, uma vez que a fixação biológica de nitrogênio possa promover um aumento de hormônios de crescimento nas plantas que são responsáveis pelo aumento celular, como por exemplo auxinas e giberelinas.

A justificativa para tais resultados provém da hipótese de que com a alta disponibilidade de Nitrogênio disponível no solo acabe por não ocorrer à associação entre planta e bactéria e a fixação biológica (DE SOUZA MOREIRA et al., 2010).

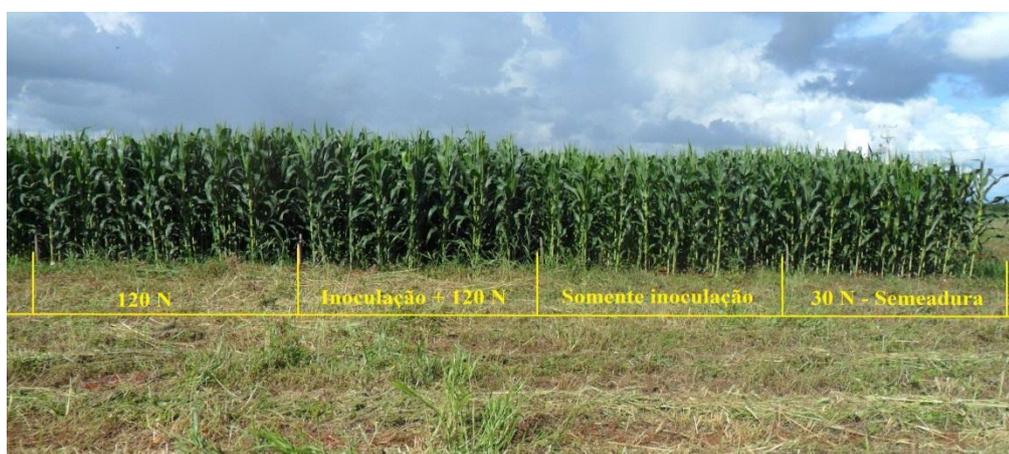
No parâmetro altura de inserção de espigas não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. A média de altura se concentrou em 1,32 metros. Resultados similares foram encontrados em trabalhos realizados por Bassi (2013) aonde independentemente da dose de Nitrogênio a presença de inoculação com *Azospirillum brasiliense* não alterou a altura de inserção de espiga. O mesmo foi observado por Pandolfo et al. (2014).

Resultados se contradizem aos encontrados por De Castilho Gitti et al. (2013) no qual observou que a altura de inserção de espiga sofreu influência positiva linear com o aumento das doses de N.

O não aumento da altura de inserção de espiga pode ser importante ao ponto de diminuir as chances de acamamento e tombamento. Alturas maiores de inserção de espigas estariam sujeitas a tais problemas em caso de condições climáticas adversas (KAPPES et al., 2013b).

Para o fator diâmetro de colmo também não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos, concordando com trabalhos realizados por De Castilho Gitti et al. (2013), Dartora et al. (2013), Tagliari (2014) e Nobre Cunha et al. (2014).

Figura 6: Altura de plantas entre os diferentes tratamentos.



Fonte: Elaborada pelo autor.

No entanto, contradizem-se aos resultados encontrados por Kappes et al. (2013), Repke (2013) e Pandolfo et al. (2015), no qual encontraram um aumento de diâmetro de colmo ao associar doses de N com inoculação de *Azospirillum brasiliense*.

Apesar de ausentes no trabalho em questão, maiores diâmetros de colmo são importantes por apresentaram maiores resistência ao acamamento e tombamento e contribuírem com aumentos de produtividade devido a maior capacidade de armazenamento de foto assimilados (KAPPES et al., 2011).

Tabela 3: Altura de plantas de milho (m), altura até inserção de espiga (cm) e diâmetro de colmo (mm), ambos avaliados no estágio de florescimento.

Tratamento	Altura de Plantas (m)	Altura até inserção de espigas (m)	Diâmetro de colmo (cm)
T8: N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)	2,503125 a	1,378125 a	2,109375 a
T5: Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)	2,4775 a	1,386875 a	2,0203125 a
T7: N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)	2,425625 a	1,3375 a	2,0396875 a
T6: N na semeadura (30 kg/ha)	2,403125 a	1,323125 a	2,021875 a
T2: Apenas inoculação (sem N)	2,39375 a	1,338125 a	1,946875 a
T4: Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)	2,38875 b	1,3425 a	2,121875 a
T3: Inoculação + N na semeadura (30 kg/ha)	2,310625 b	1,27125 a	1,960625 a
T 9: Inoculação (Dose dobrada do inoculante) + N na semeadura (30 kg/ha)	2,305625 b	1,27 a	2,0078125 a
T1: Testemunha (sem aplicação de nitrogênio)	2,25375 b	1,310625 a	1,841875 a
C.V. (%)	2,766	3,578	6,985

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nos quesitos área foliar e índice de área foliar não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos. Os maiores resultados vieram consequentes das maiores doses de adubação nitrogenada não diferindo estatisticamente entre eles, sendo similares aos resultados de Bassi (2013), Repke (2013) e Muller et al. (2012). Trabalhos realizados por Dartora et al. (2013) e Muller (2013) encontraram interação significativa entre as doses de N e a inoculação com *Azospirillum brasiliense*.

Maiores teores de N disponibilizados para as plantas levam a maior aumento e crescimento da área foliar. Nesse sentido, folhas bem nutrida de N apresentam capacidade superior de assimilar CO₂ e sintetizar carboidratos durante o processo de fotossíntese (CASTRO; KLUGE; SESTARI, 2008).

A extensão da área foliar mostra-se importante em todos os estágios de desenvolvimento da planta de milho, inclusive na fase de grão leitoso necessitando sólidos solúveis disponíveis para o desenvolvimento do processo de formação dos grãos (CASTRO; KLUGE; SESTARI, 2008).

Segundo Fancelli (2000) os valores ideais de índice de área foliar concentram-se entre 3 e 5. Apesar de não apresentarem diferenças estatísticas entre os tratamentos, os valores de IAF encontrados no trabalho em questão estão dentro dos padrões e, alguns até acima, garantindo eficiente aproveitamento de luz pela planta e maior produção de fotoassimilados.

Esperava-se anteriormente a realização do trabalho resultados significativos estatisticamente com a presença de inoculação sobre área foliar e índice de área foliar, uma vez que a inoculação venha a promover um aumento dos hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas atuando diretamente no desenvolvimento da área foliar, sendo que sua participação é observada em componentes de biomoléculas e auxílio na biossíntese de proteínas, DNA, RNA, ácidos nucleicos, hormônios e clorofilas (ANDRADE et al., 2003).

Tabela 4: Área Foliar (AF) e Índice de Área Foliar (IAF) de plantas de milho no estágio de florescimento.

Tratamentos	AF (cm ²)	IAF (cm ²)
T8: N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)	7537,15 a	6,00 a
T6: N na semeadura (30 kg/ha)	6392,4 a	5,10 a
T3: Inoculação + N na semeadura (30 kg/ha)	6692,42 a	5,35 a
T5: Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)	6964,97 a	5,58 a
T4: Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)	7357,62 a	5,88 a
T7: N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)	6721,67 a	5,38 a
T9: Inoculação (Dose dobrada do inoculante) + N na semeadura (30 kg/ha)	6604,40 a	5,28 a
T2: Apenas inoculação (sem N)	5811,70 a	4,63 a
T1: Testemunha (sem aplicação de nitrogênio)	5722,00 a	4,60 a
C.V. (%)	11,35	11,35

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 PARÂMETROS DE PRODUTIVIDADE

As maiores produtividades foram encontradas nos tratamentos com maiores doses de N (120 N e 60 N) não diferindo estatisticamente entre eles pela presença da inoculação.

O tratamento 5 (120 N + inoculação) apresentou produtividade de 10567,5 kg por hectare, enquanto que, o tratamento 8 com a mesma dose de adubação mas sem inoculação, apresentou uma produtividade de 10180 kg por hectare. Nessa situação a inoculação apresentou um aumento de 387,5 kg por hectare, mas estatisticamente não apresentou diferenças.

Resultados similares foram encontrados por De Godoy et al. (2011) no qual também não encontrou diferenças estatísticas de produtividade ao testar a eficiência de *Azospirillum brasiliense* associado a doses de 130 kg de N por hectare.

Para Bassi (2013) ao avaliar a eficiência de inoculação com *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho em teores de adubação de 150 N/ha encontrou um aumento de 710 kg/ha no tratamento inoculado (11874 kg/ha) em relação ao não inoculado (11164 kg/ha). Apesar de não apresentar diferenças estatísticas significativas resultados comprovaram um aumento de produtividade com a presença de inoculação associada a tal dose de N.

Autores Dobbelaire, Vanderleyden, Okon (2003 apud Novakowski et al. 2011) atribuem resultados positivos da inoculação em doses mais elevadas de nitrogênio ao fato de que as respostas da planta não ocorrem apenas em razão do N₂ fixado, mas, também, pela produção de outras substâncias.

Por outro lado, a não presença de aumento ou, aumento não significativo de produtividade em doses mais altas de N e presença de inoculação pode ser justificada ao fato de que a adição de fertilizantes venha a alterar a diversidade das bactérias diazotróficas no solo (BERGAMASCHI 2006). De acordo com Hungria (2011) doses mais altas de nitrogênio podem levar a anular o efeito da inoculação. Para Reis Junior et al. (2008) doses elevadas de nitrogênio podem ocasionar efeitos negativos sob bactérias diazotróficas associadas a cultura do milho.

As adubações de 60 N compreenderam os tratamentos 4 e 7, sendo que o tratamento 4 apresentava a presença de inoculação. No tratamento inoculado obteve-se uma produtividade de 9860 kg por hectare, enquanto que no tratamento sem a inoculação a produtividade foi de 8942,5 kg hectare. Nessa situação a presença de inoculação promoveu um aumento de 917,5 kg por hectare. Apesar de que, estatisticamente, não diferiram entre eles.

Nos trabalhos realizados por De Godoy et al. (2011) avaliando a resposta de *Azospirillum brasiliense* com doses de 65 kg/ha de N não encontrou aumentos de produtividade com diferença estatística. Em trabalhos realizados por Bartchechen et al. (2010) ao testar a eficiência da *Azospirillum brasiliense* no milho encontrou maiores produtividades nos tratamentos com 124 Kg de uréia/hectare não diferindo estatisticamente do segundo tratamento que continha apenas a mesma dose de adubação nitrogenada. Trabalhos realizados por Repke et al. (2014) constataram também resultados similares.

Nos experimentos realizados por Nobre Cunha et al. (2014) concluiu-se como dose ideal 89% da dose indicada para a adubação do milho. O mesmo constatou acréscimo de produtividade quando da inoculação e aumentos da adubação nitrogenada, até o valor de 75% da dose indicada. Após esse índice não se observa mais incremento significativo de produtividade até a dose de 100%.

As adubações com 30N compreendem os tratamentos 3, 6 (Figura 6) e 9, sendo que o tratamento 3 apresentava a presença de inoculação e o tratamento 9 a dose dobrada de inoculação.

Entre os tratamentos 3 (presença de inoculação + 30 N/ha) e o tratamento 6 (30 N/ha) observou-se uma redução de produtividade de 1482,5 kg por hectare do tratamento 6 para o 3, apresentando diferenças estatísticas entre eles.

Resultados são similares aos encontrados por Kappes et al. (2013), que não encontrou efeitos positivos de inoculação em doses mais baixas de nitrogênio. O mesmo autor evidenciou aumento de produtividade conforme aumentou-se os teores de adubação nitrogenada.

Bartchechen et al. (2010) ao avaliar inoculação + 62 Kg/ha de ureia por hectare em relação ao tratamento apenas com 62 Kg/ha de ureia não encontrou aumento de produtividade que seja superior estatisticamente entre eles.

Situação similar foi observada entre os tratamentos 6 (30 N/ha) e 9 (Dose dobrada do inoculante + 30 N/ha). Nessa situação a dose dobrada da inoculação também proporcionou uma redução de produtividade de 692,5 kg por hectare. Resultados discordam dos encontrados por Vitorassi (2012), no qual, ao utilizar à dose dobrada (200 ml/hectare) de inoculante a base de *Azospirillum brasiliense* encontrou maiores rendimentos de grãos, maior número de fileiras de grãos por espiga, maior número de grãos por espiga e maior massa de 1000 grãos.

Resultados de diminuição de produtividade foram observados também entre a testemunha e o tratamento que teve apenas a presença de inoculação. Nesse caso, a presença de inoculação proporcionou uma diminuição de produtividade de 255 kg por hectare. Resultados similares foram também encontrados por Bartchechen et al. (2010).

De acordo com os dados expostos comparando a presença de *Azospirillum brasiliense* e doses de 30 kg/ha N, 60 kg/ha N e 120 kg/ha N a melhor eficiência da fixação biológica foi observada nos tratamentos que continham doses de 60 kg/ha de adubação nitrogenada e presença de inoculação, apesar de não diferirem estatisticamente entre os tratamentos contendo 120 kg/ha N e a presença de inoculação.

Tabela 5: Produtividade do milho em kg/ha⁻¹ e sacas/hectare.

Tratamentos	Kg/ha ⁻¹	Sacas ha ^{-1**}
T5: Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)	10567,5 a	176,125 a
T8: N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)	10180 a	169,666 a
T4: Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)	9860 a	164,333 a
T6: N na semeadura (30 kg/ha)	8962,5 a	149,375 a
T7: N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)	8942,5 a	149,041 a
T9: Inoculação (Dose dobrada do inoculante) + N na semeadura (30 kg/ha)	8270 b	137,833 b
T3: Inoculação + N na semeadura (30 kg/ha)	7480 b	124,666 b
T1: Testemunha (sem aplicação de nitrogênio)	7007,5 b	116,791 b
T2: Apenas inoculação (sem N)	6752,5 b	112,541 b
CV (%)	12,0	12,0

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor.

** : Sacas de 60 kg.

Para o atributo peso de 1000 grãos, os maiores índices vieram em consequência dos maiores teores de adubação nitrogenada. Os tratamentos 5, 8, 4 e 7 apresentaram maior peso diferindo entre os tratamentos restantes, conforme se diminuiu os teores de N houve um menor peso de 1000 grãos.

Resultados confirmam os encontrados por Pandolfo et al. (2015) e Carreira et al. (2012). Enquanto que De Quadros et al. (2014), Vorpapel (2010) e Costa et al. (2015) encontraram respostas estatísticas positivas da inoculação no aumento de peso de 1000 grãos. Em seu trabalho De Quadros et al. (2014) concluiu que a inoculação proporcionou um aumento de 268 g para 348 g no peso de 1000 grãos.

Figura 7: Maturação do milho. Tratamento 6 (30 N/ha)



Fonte: Elaborada pelo autor.

Silva et al. (2006) também encontrou aumento na massa de grãos com o aumento das doses de N na aplicação em cobertura. Conforme se aumenta a disponibilidade de N para as plantas aumenta-se o potencial da planta em definir maiores números e massa de sementes por espiga, desde que não seja limitada por outros fatores (POTTKER & WIETHOLTER, 2004). Para Ohland et al. (2005) o genótipo, disponibilidade de nutrientes e condições climáticas durante o estágio de enchimento de grãos tem influencia direta sobre a massa dos grãos.

Ao avaliar o efeito de inoculação de *Azospirillum brasiliense* Bassi (2013) observou que a inoculação, apesar de não apresentar diferenças estatísticas, proporcionou incrementos de 1,4 e 1,7% na massa de mil grãos.

Na avaliação de comprimento e diâmetro de espigas, novamente, os maiores valores vieram em consequência dos tratamentos com maiores doses de N não diferindo estatisticamente pela presença de inoculação entre os tratamentos 5, 8, 4 e 7. Ao diminuir as doses de N observou-se uma diminuição do comprimento e diâmetro das espigas. Resultados similares foram também encontrados por De Castilho Gitti et al. (2015) e Repke et al. (2013).

Tabela 6: Peso de 1000 grãos (g) e comprimento (cm) e diâmetro de espigas.

Tratamentos	Peso de 1000 grãos (gramas)	C (cm)	D (cm)
T5: Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)	312,575 a	12,83 a	5,2525 a
T8: N na semeadura + N em cobertura (120 kg/ha)	292,125 a	12,1475 a	5,41 a
T4: Inoculação + N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)	300,425 a	12,8775 a	5,3025 a
T6: N na semeadura (30 kg/ha)	282,725 b	11,725 a	5,1 b
T7: N na semeadura + N em cobertura (60 kg/ha)	293,725 a	12,095 a	5,18 a
T9: Inoculação (Dose dobrada do inoculante) + N na semeadura (30 kg/ha)	271,35 b	11,82 a	5,08 b
T3: Inoculação + N na semeadura (30 kg/ha)	271,4 b	10,1125 b	5,0525 b
T1: Testemunha (sem aplicação de nitrogênio)	269,575 b	10,8175 b	4,855 b
T2: Apenas inoculação (sem N)	263,775 b	10,3625 b	4,895 b
CV (%)	5,72	8,10	3,57

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor.

5 CONCLUSÕES

A presença de inoculação promove aumento de produtividade nos tratamentos com as maiores doses de nitrogênio evidenciando a importância da utilização da técnica. No entanto, estatisticamente não apresentam diferenças entre os tratamentos.

Os maiores valores de: peso de 1000 grãos, tamanho de espiga, altura de plantas, altura até inserção de espiga, diâmetro de colmo, área foliar e índice de área foliar são consequência das maiores doses de adubação nitrogenada.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, S. R. S.; PROCHNOW, L. I.; FANCELLI, A. L. **Simpósio discute como utilizar insumos e recursos para otimizar a produtividade do milho**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute – Brasil, 2008. (Informações Agronômicas, 122).
- AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendações de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.241-248, 2002.
- ANDRADE, A. C., FONSECA, D. D., QUEIROZ, D. S., SALGADO, L. T., & CECON, P. R. (2003). Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 1643-1651, 2003.
- ARSAC, J.F.; LAMOTHE, C.; MULARD, D.; FAGES, J. Growth enhancement of maize (*Zea mays* L.) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration. *Agronomie* 10:649–654, 1990.
- BÁRBARO, I. BRANCALIÃO, S. TICELLI, M. É possível a fixação biológica de nitrogênio no milho? **Pesquisa e Tecnologia**, v. 5, n. 1, jan-jun 2008.
- BARTCHECHEN, A; FIORI, C, C, L.; WATANABE, S, H.; GUARIDO, R, C. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays*). **Campo Digital**, v.5, n.1, p.56-59, 2010. 4p.
- BASI, Simoni. **Associação de *Azospirillum brasiliense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Área de Concentração de Produção Vegetal). Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; BASHAN, L. E. de. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v.50, p.521-577, 2004.
- BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; COMIRAN, F.; BERGONCI, J. I.; MULLER, A. G.; FRANÇA, S.; SANTOS, A. O.; RADIN, B.; BIANCHI, C. A. M.; PEREIRA, P. G. Deficit hídrico e produtividade na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.243-249. 2006.
- BERGAMASCHI, Clarissa. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a raízes e colmos de cultivares de sorgo. 2006. 83 p.** Dissertação (Mestrado-Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal Rural do Rio Grande do Sul, 2006.
- BORTOLINI, C. G.; SILVA, P. R. F.; ARGENTA, G.; FORSTHOFER, E. L. Rendimento de grãos de milho cultivado após aveia-preta em resposta a adubação nitrogenada e regime hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 9, p. 1101-1106, 2001.
- BRUNINI, O., ZULLO Jr., J., PINTO, H.S. et al. Riscos climáticos para a cultura de milho no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v.9, n.3, p.519-526, 2001. Número Especial – Zoneamento Agrícola.
- CANTERI, M.G.; ALTHAUS, R.A.; VIRGENS FILHO, J.S.; GIGLIOTI, E.A.; GODOY, C.V.; SASM-Agri – Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação** 1:18-24, 2001.

CARREIRA, Felipe. da Silva. Estudante IC; et al., 2012. **EFEITO DA Azospirillum brasilense NA PRODUTIVIDADE DE MILHO NO SUDOESTE GOIANO**. I Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Campus de Rio Verde IFGoiano. 06 e 07 de Novembro de 2012.

CARVALHO, N. L.; ZABOT, V.; Nitrogênio: Nutriente ou Poluente? v (6), nº 6, p. 960 – 974 – 2012. **Rev. Elet, em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental** (e-ISSN: 2236-1170).

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual de fisiologia vegetal: fisiologia de cultivos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2008. 864 p.

CAVALLET, L. E., PESSOA, A. D. 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**, 4(1), 129-132, 2000.

CENTRO ESTADUAL DE METEOROLOGIA – **CEMETRS**. Porto Alegre, 2013. Disponível em < <http://www.cemet.rs.gov.br/>>. Acesso em 29 abril de 2014.

CIB, CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE TECNOLOGIA. **Milho, tecnologia do campo a mesa**. 2006. Versão Online Disponível em < http://www.cib.org.br/pdf/guia_do_milho_CIB.pdf> Acesso em 26 de março de 2015.

COELHO, A. M., FRANÇA, G. D., PITTA, G. V. E., ALVES, V. M. C., & HERMANI, L. C. (2006). Nutrição e adubação do milho. Embrapa: milho e sorgo. Disponível em < <http://www.dpv24.iciag.ufu.br/new/dpv24/Apostilas/NUTRICA0%20E%20ADUB.%20MILHO%20-%20CNPMS.pdf>> Acesso em 13 de Abril de 2015.

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E.; BAHIA, A.F.C.; GESEDES, G.A.A. Balanço de nitrogênio N em um latossolo vermelho escuro, sob vegetação de cerrado, cultivado com milho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.15, p.187-193, 1991.

COELHO, A. M. Manejo da Adubação Nitrogenada na Cultura do Milho. **Jornal Eletrônico da Embrapa Milho e Sorgo** (Sete Lagoas-MG) Ano 04 - Edição 23 - Abril / Maio de 2010. Disponível em http://www.cnpms.embrapa.br/grao/24_edicao/grao_em_grao_artigo_01.htm. Acesso em: 15 de outubro de 2015.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem**. 404 f. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Comissão de Química e fertilidade do Solo. – 10. Ed. – Porto Alegre, 2004.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, V.2 – Safra 2014/15, n.1 – Primeiro Levantamento, Brasília, p. 1-89, out. 2014.

CONAB. Companhia Nacional do Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos. V.3 – Safra 2015/16 – N.1 – Primeiro Levantamento / Outubro de 2015. **Acomp. safra bras. grãos**, v. 3- Safra 2015/16 - primeiro levantamento, Brasília, p. 1-104, outubro 2015.

COSTA, R. R. G. F., QUIRINO, G. D. S. F., de FREITAS NAVES, D. C., SANTOS, C. B., & de SOUZA ROCHA, A. F. Eficiência de inoculante com *Azospirillum brasilense* no crescimento e produtividade de milho de segunda safra. **Pesquisa Agropecuária Tropical** (Agricultural Research in the Tropics),45(3). (2015)

CRUZ, A. P. & CABEZAS, W. R. Adubação Nitrogenada na Cultura do Milho. A importância da palha e da atividade biológica na fertilidade do solo. **CURSO SOBRE ASPECTOS BÁSICOS DE FERTILIDADE E MICROBIOLOGIA DO SOLO EM PLANTIO DIRETO**. Cruz Alta, (1999). Disponível em <[http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf/926048f0196c9d4285256983005c64de/f8b417b07603cbfe83256c7000699f5d/\\$FILE/Anais%20Antonio%20de%20Padua%20Cruz.doc](http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf/926048f0196c9d4285256983005c64de/f8b417b07603cbfe83256c7000699f5d/$FILE/Anais%20Antonio%20de%20Padua%20Cruz.doc)> Acesso dia 13 de abril de 2015.

CRUZ, J. C., FILHO, I. A. P., ALVARENGA, R. C., NETO, M. G., VIANA, J. H. M., OLIVEIRA, M. F., MATRANGOLO, W. J. R., FILHO, M. R. A., **Cultivo do Milho**. Embrapa milho e sorgo. Sistemas de produção, 2 – 6ª Edição, 2010.

CRUZ, J. C., GARCIA, J. C., FILHO, I. A. P., PINTO, L. B. B., QUEIROZ, L. R., Caracterização dos sistemas de produção de milho para altas produtividades. **EMBRAPA Circular Técnica 124**. Sete Lagoas MG, Dezembro 2009.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. R. Adubação Nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.17, n.10, p.1023–1029, 2013.

DE ANDRADE MEIRA, F., BUZETTI, S., ANDREOTTI, M., Arf, O., de SA, M. E., & da COSTA ANDRADE, J. A. Fontes e épocas de aplicação do nitrogênio na cultura do milho irrigado. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n.2, p.275-284, abr/jun. 2009.

DE CASTILHO GITTI, D.; MIRANDA, R. A. S.; LOURENÇÃO, A. L. F.; ROSCOE, R. "Inoculação de Sementes de com *Azospirillum brasilense* e Doses de Nitrogênio em Cobertura do Milho Safrinha." **XII Seminário Nacional de Milho Safrinha**. 26 a 28 de novembro de 2013. Dourados, MS.

DE GODOY, J. C. S., WATANABE, S. H., FIORI, C. C. L., & GUARIDO, R. C.. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. **Campo Digital**, v. 6, n. 1, 2011.

DE QUADROS, P. D., ROESCH, L. F. W., da SILVA, P. R. F., MACEDO, V., VIEIRA, D. D. R., & de OLIVEIRA CAMARGO, F. A. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, 61(2), 209-218, 2014.

DE SOUZA MOREIRA, F. M., Da SILVA, K., NOBREGA, R. S. A., & De CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, 1(2), 74, 2010.

DINIZ, S.P.S.S. **Fixação biológica do nitrogênio, aspectos bioquímicos (2)**. Agosto 2009. Disponível em <<http://www.google.com.br/url?q=http://www.spdiniz.com.br/assets/downloads/Alunos/fixacaobiologicadonitrogenio.doc&sa=U&ved=0CBQQFjAAahUKEwjv7afWgJJAhWFHpAKHSheByw&usq=AFQjCNFdaQleIGUo1AMhS-Bfil28Dhj2Cw>>. Acesso em: 10 de junho de 2015.

DÖBEREINER, J. **Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas**. In: CARDOSO, E.J.B.N., TSAI, S.M., NEVES, M.C.P. Microbiologia do solo. Campinas: SBCS, p. 173- 180, 1992.

EMBRAPA, **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos** / Humberto Gonçalves dos Santos ... [et al.]. – 3 ed. rev. ampl. – Brasília, DF : Embrapa, 2013. 353 p.

FANCELLI, A. L. Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes na cultura de milho. 2010. **IPNI, International Plant Nutrition Institute** – Informações Agronômicas nº 131 – Setembro/2010.

FANCELLI, A. L. **Fisiologia, nutrição e adubação do milho para alto rendimento**. Piracicaba, São Paulo. Departamento de Produção Vegetal. São Paulo: ESALQ/USP, 2000, 9p.

FERREIRA, A. C. B, de ANDRADE ARAUJO, G. A., ROBERTO, P., PEREIRA, G., & CARDOSO, A. A. Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agricola**, 58(1), 131-138, 2001.

FERREIRA, V. E. N.; KAPPES, C.; PEREIRA, P. H. T.; JUNIOR, W. K. K. Inoculação de sementes com *Azospirillum brasiliense* e nitrogênio em cobertura no milho safrinha. Embrapa. **XII Seminário Nacional. Milho Safrinha - Estabilidade e Produtividade**. Dourados MS. 25/28 nov, 2013.

FRANÇA, G. E. COELHO, A. M. BAHIA FILHO, A. F. C. Parcelamento da adubação nitrogenada em cobertura na cultura de milho irrigado. 1994 **Solos e Nutrição** – Embrapa Digital, Disponível em <
<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/73923/1/Parcelamento-adubacao.pdf>>
Acesso em 13 de Abril de 2015.

FRANÇA, S., BERGAMASCHI, H., & ROSA41, L. M. G. Modelagem do crescimento de milho em função da radiação fotossinteticamente ativa e do acúmulo de graus-dia, com e sem irrigação. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v.7, n. 1, p. 59-66, 1999.

GADIOLI, J. L., DOURADO-NETO, D., GARCIA, A. G., & BASANTA, M. V. Temperatura do Ar, Rendimento de Grãos de Milho e Caracterização Fenológica Associada a Soma Calórica. **Scientia Agricola**, v.57, n.3, p.377-383, jul/set. 2000.

GIACOMINI, S. J., JANTALIA, C. P., AITA, C., URQUIAGA, S. S., & ALVES, B. J. R. Emissão de óxido nitroso com a aplicação de dejetos líquidos de suínos em solos sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.11, p.1653-1661, nov.2006.

GRAY, E. J.; SMTH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v.37, p.395-412, 2005.

GUEDES, I. M. R. **Uso Excessivo de Fertilizantes**. 2011. Disponível em <
http://scienceblogs.com.br/geofagos/2011/06/uso_excessivo_de_fertilizantes/> Acesso em 14 de abril de 2015.

GONÇALVES, C. N.; CERETTA, C. A.; BASSO, C. J.; Sucessões de culturas com plantas de cobertura e milho em plantio direto e sua influência sobre o nitrogênio do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v. 24, n. 1, p, 153-159. Jan/mar. 2000.

HUNGRIA, M. CAMPO, R. MENDES, I. A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. **Embrapa Soja, Documento 283**, ISSN 1516-781X, Londrina-PR, Junho de 2007.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja, Documento 325**, ISSN 2176-2937, Londrina-PR, Julho de 2011.

IMSANDE, J. TOURAINE, B. N Demand and the Regulation of Nitrate Uptake. 1994. *Plant Physiology* 105, 3 – 7.

KAPPES, C.; ANDRADE, J.Á.; ARF, O.; OLIVEIRA AC.; ARF MV & Ferreira JP (2011) **Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas**. *Bragantia*, 70:334-343.

KAPPES, C.; ZANCANARO L.; LOPES, A. A.; KOCH, C. V.; FUJIMOTO, G, R.; FERREIRA, V. E. N. Aplicação Foliar de *Azospirillum brasilense* e Doses de Nitrogênio em Cobertura no Milho Safrinha. **XII Seminário Nacional de Milho Safrinha**. 26 a 28 de novembro de 2013. Dourados, MS

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

KARAM, D., MELHORANÇA, A. L., & OLIVEIRA, M. F. Plantas Daninhas da Cultura do Milho. Cap 9. **Circular Técnica, Embrapa Milho e Sorgo**, ISSN 1679-1150, 2006.

KIM, J.; REES, D.C. Nitrogenase and Biological Nitrogen Fixation. *Biochemistry*, **New York**, v.33, p.389-397, 1994.

KUINCHTNER, A. BURIOL, G. Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação de Koppen e Thornthwaite. **Disciplinarum Scientia**, v. 2, n. 1, p. 171-182, Santa Maria 2001.

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

LIMA, S. C. LOPES, E. S. LEMOS, E. G. M. Caracterização de Rizóbios (*bradyrhizobium japonicum*) e produtividade da soja. **Scientia Agrícola**. Vol. 55 n. 3 Piracicaba 1998.

LOPES, A. S. Micronutrientes – Filosofias de aplicação e eficiência agrônômica. 1999. 64 f. ANDA Associação Nacional para Difusão de Adubos – São Paulo SP.

MAGALHÃES, P. A.; DURÃES F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PALVA, E. Fisiologia do Milho. **Circular Técnica 22**. Embrapa. Circ22c. p65. 2002.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. A. M.; GOMIDE, R. L. **Fisiologia da Cultura do Milho**. **Embrapa – Biblioteca de Sete Lagoas**. 1996. Disponível em <<https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CB0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fainfo.cnptia.embrapa.br%2Fdigital%2Fbitstream%2Fitem%2F48183%2F1%2FFisiologia-cultura.pdf&ei=g4ouVcGBA5G1sAShILoDQ&usg=AFQjCNE4RdRWLla9Zly4mAPwZHykjin6oqQ&bvm=bv.90790515,d.aWw>>. Acesso em 13 de abril de 2015.

MARIN, V. A., BALDANI, V. L. D., TEIXEIRA, K., & BALDANI, J. Fixação Biológica de Nitrogênio: Bactérias Fixadoras de Nitrogênio de Importância para a Agricultura Tropical. 1999. **EMPRAPA – CNPAB. Documentos**, 91. 24 p. 11 jul 2003.

MENDES, M. C., DO ROSARIO, J. G., FARIA, M. V., ZOCHE, J. C., & WALTER, A. L. B. Avaliação da eficiência agrônômica de *Azospirillum brasilense* na cultura do trigo. **V**

Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, Dourados-MS, julho de 2011.

MORAES, T. P. **Adubação Nitrogenada e Inoculação com *Azospirillum brasiliense* em Híbridos de Milho**. 2012. 83 f. Dissertação (Área de Concentração em Fitotecnia). Universidade Federal de Uberlândia. Minas Gerais, 2012.

MULLER, T. M., BAZZANEZI, A. N., VIDAL, V., TUROK, J. D. N., RODRIGUES, J. D., & SANDINI, I. E. Inoculação de *Azospirillum brasiliense* no tratamento de sementes e sulco de semeadura na cultura do milho. XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO - Águas de Lindóia - 26 a 30 de Agosto de 2012.

MÜLLER, Tânia. Maria., Inoculação de *Azospirillum brasiliense* associada a níveis crescentes de adubação nitrogenada e o uso de bioestimulante vegetal na cultura do milho. 2013. 98 f. Dissertação (Mestrado na Área de Concentração em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Centro – Oeste. Guarapuava, 2013.

NOBRE CUNHA, F.; FURTADO DA SILVA, N.; JOSÉ DE CAMPOS BASTOS, F.; JOAQUIM DE CARVALHO, J.; MINERVINA DE FREITAS MOURA, L.; BATISTA TEIXEIRA, M.; & LUIZ SOUCHIE, E. EFEITO DA *Azospirillum brasiliense* NA PRODUTIVIDADE DE MILHO NO SUDOESTE GOIANO. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*,13(3), 261-272, 2014.

NOVAKOWISK, JH.; SANDINI IE., FALBO MK.; DE MORAES A.; NOVAKOWISKI, JH.; CHENG NC (2011) Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina 32:1687-1698.

OHLAND, R. A. A., SOUZA, L. C. F. D., HERNANI, L. C., MARCHETTI, M. E., & GONÇALVES, M. C. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005.

PANDOLFO, C. M., VOGT, G. A., JUNIOR, A. A. B., GALLOTTI, G. J. M., & ZOLDAN, S. R. Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasiliense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. **Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2014.

PEDRINHO, E.A.N.; GALDIANO, J. R. F.; CAMPANHARO, C. J.; ALVES, L. M. C.; LEMOS, E.G. M. Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. **Bragantia**, v.69, p.905-911, 2010.

PÖTKER, D. WIETHÖLTER, S. Épocas e métodos de aplicação de nitrogênio em milho cultivado no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1015-1020, julho, 2004.

QUADROS, Patricia. De. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

REIS JUNIOR, F. B. et al., C. T.. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32:1139 – 1146, 2008.

REIS, V. M. & TEIXEIRA, K. R. S. Fixação Biológica do Nitrogênio – Estado da Arte. P. 151-180. 2005. **Processos Biológicos no Sistema Solo-planta**. Embrapa Agrobiologia, Brasília-DF, Embrapa informações tecnológicas, 2005, 368p.

REIS, V. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. **Embrapa Agrobiologia – Documentos 232**, Seropédica-RJ, 2007.

REPKE, R. A. **Eficiência da *Azospirillum brasilense* na fixação de nitrogênio em milho**. 2013. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2013.

REPKE, R. A., CRUZ, S. J. S., SILVA, C. J. D., FIGUEIREDO, P. G., & BICUDO, S. J. EFICIÊNCIA DA *Azospirillum brasilense* COMBINADA COM DOSES DE NITROGÊNIO NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 3, p. 214-226, 2013.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. Arquivo do agrônomo, n. 15, p. 1-20, set. 2003. (Informações Agrônomicas, 103).

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J. & BENSON, G.O. How a corn plant develops. Ames, **Iowa State University of Science and Technology**, 1993. 26p. Disponível em https://s10.lite.msu.edu/res/msu/botonl/b_online/library/maize/www.ag.iastate.edu/departments/agronomy/corn_grows.html . Acesso em 12 de setembro de 2015.

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. Disponível em < <http://link.springer.com/article/10.1007/s11274-006-9142-4#/page-1> > Acesso em 15 de junho de 15.

SALTON, J.C.; FABRICIO, A.C.; TIRIONI, C. & GANCEDO, M. Cloreto de potássio na linha de semeadura pode causar danos a soja. Dourados, Embrapa, 2002. (Comunicado Técnico, 64).

SANGOI, L. ERNANI, P. R.; LECH, V. A.; RAMPAZZO, C.; Lixiviação de nitrogênio afetada pela forma de aplicação de ureia e manejo dos restos culturais de aveia em dois solos com texturas contrastantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 1, p. 65-70, Santa Maria-RS, janeiro/fevereiro de 2003.

SANGOI, L.; SCHWEITZER, C.; SILVA, P. R. F.; SCHMITT, A.; VARGAS, V. P.; CASA, R. T.; SOUZA, C. A. Perfilhamento, área foliar e produtividade do milho sob diferentes arranjos espaciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.46, n.6, p.609-616, 2011.

SANTOS, Karen. Marques. Dos. Emissão de Óxido Nitroso e Volatilização de Amônia em Pastagem de Capim-Marandu. 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável) – Agencia Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Nova Odessa-SP, fevereiro de 2013.

SEGINK, E. S. Os macronutrientes e os micronutrientes das plantas. Versão 2003. **Calagem e adubação de Plantas Forrageiras**. 2003. Disponível em < <http://www.nupel.uem.br/nutrientes-2003.pdf> > Acesso em 13 de Abril de 2015.

SILVA, E.C.; MURAOKA, T.; BUZETTI, S. & TRIVELIN, P.C.O. Manejo de nitrogênio no milho sob plantio direto com diferentes plantas de cobertura, em Latossolo Vermelho. **Pesq.**

Agropec. Bras. 41:477-486, 2006.

SILVA, P. S. L.; OLIVEIRA, F. H. T. de; SILVA, P. I. B. Efeitos da aplicação de doses de nitrogênio e densidades de plantio sobre os rendimentos de espigas verdes e de grãos de milho. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.21 n.3, p.454-457, 2003

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

TAGLIARI, Leonardo. Pellizzaro. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada na cultura do milho cultivado sobre palhada de aveia e nabo**. 2014. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Santa Catarina. Campus de Curitibanos SC, 2014.

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, Brasília-DF, agosto de 2010.

VITORASSI, Cristiano. Frasseto. **Uso de Inoculante *Azospirillum brasilense* para milho**, 2012. Trabalho Final de Graduação – União Dinâmica de Faculdades Cataratas. Foz do Iguaçu PR, 2012.

VORPAGEL, G, A, Inoculação de *Azospirillum*, isolado e associado a Bioestimulante, em milho, no noroeste do RS. **Monografia (Trabalho de conclusão de curso em agronomia)** apresentada a UNIJUÍ. Ijuí – RS. 2010.

ZAMARIOLLI, L. E. R.; GALVÃO, M. A. K.; Efeitos de métodos de aplicação do inoculante *Azospirillum brasiliense* sobre o acúmulo de nitrogênio e produtividade no milho safrinha. 3º Enc MAP. Encontro de Mecanização de Agricultura de Precisão. 12 a 14 de Novembro de 2012 – Pompeia SP.