



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ENGENHARIA – CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

MANEJO DA ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO
MILHO PELO USO DA INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense*
EM CONSÓRCIO COM CAPIM XARAÉS

WÉSLEY CARLOS ROSSINI DE SOUZA

Engenheiro Agrônomo

Ilha Solteira - SP

2014



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ENGENHARIA – CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – ÁREA DE
CONCENTRAÇÃO EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO

MANEJO DA ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO
MILHO PELO USO DA INOCULAÇÃO COM *Azospirillum brasilense*
EM CONSÓRCIO COM CAPIM XARAÉS

WÉSLEY CARLOS ROSSINI DE SOUZA
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Andreotti

Dissertação apresentada à Faculdade de
Engenharia – UNESP – Campus de Ilha
Solteira para a obtenção do título de
Mestre em Agronomia.
Especialidade: Sistemas de Produção.

Ilha Solteira - SP

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

S729m Souza, Wésley Carlos Rossini de.
Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho pelo uso da
inoculação com *Azospirillum brasilense* em consórcio com capim xaraés /
Wésley Carlos Rossini de Souza. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2014
66 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de
Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2014

Orientador: Marcelo Andreotti

Inclui bibliografia

1. *Urochloa brizantha*. 2. Bactérias diazotróficas. 3. *Zea mays*. 4. Nitrogênio.
5. Integração lavoura-pecuária.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

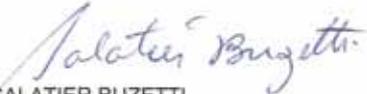
TÍTULO: Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho pelo uso da inoculação com *Azospirillum brasilense* em consórcio com capim-xaraés

AUTOR: WÉSLEY CARLOS ROSSINI DE SOUZA
ORIENTADOR: Prof. Dr. MARCELO ANDREOTTI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA ,
Área: SISTEMAS DE PRODUÇÃO, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARCELO ANDREOTTI

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. SALATIER BUZETTI

Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira


Prof. Dr. VANDEIR FRANCISCO GUIMARAES

Departamento de Botânica / Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Data da realização: 29 de agosto de 2014.

DEDICATÓRIA

Em primeiro lugar dedico esta pesquisa a DEUS, por ter me acompanhado e guiado nessa longa e importante trajetória de minha vida.

À minha querida esposa Jaqueline, por todo amor e companheirismo, e por ter me acompanhado nas longas e cansativas viagens noturnas de Uberaba à Ilha Solteira.

Aos meu queridos pais, Antonio (Carlito) e Izaura, aos meus irmãos Vagner, Edvania e Erivelton, ao meu cunhado Edivaldo, minhas sobrinhas Caroline e Camile e toda minha família.

À família de minha esposa, minha sogra Sirlene, avó Maria Aparecida, a minha cunhada Andréia, meu cunhado Ivan, sobrinha Isadora e a toda família.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Engenharia da Universidade Estadual Paulista, Campus de Ilha Solteira, pela oportunidade concedida para a realização do curso de Pós Graduação em Agronomia com qualidade e excelência.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Andreotti, por todos os ensinamentos, por toda paciência comigo quando eu dava uma “sumida do mapa” por algum tempo devido ao meu trabalho, vão meus sinceros agradecimentos.

À Vanessa Longhini, por ter me apoiado na condução do experimento no campo.

Às Usinas Pioneiros Bioenergia (atual Usina Santa Adélia Pioneiros) e a Bunge – Usina Santa Juliana, agradeço por terem me liberado para as aulas da pós graduação, e por terem apostado no meu crescimento profissional.

A todos os funcionários da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão, pelo apoio às atividades de campo.

A todos os amigos que fiz durante o curso, em especial ao Renan Araújo, José Eduardo Soria e Caio Piza.

Agradeço também a todos os professores e funcionários, por todo apoio e dedicação.

RESUMO

Objetivou-se avaliar doses de nitrogênio em cobertura, com e sem a inoculação das sementes com a bactéria promotora de crescimento de plantas *Azospirillum brasilense* nas safras de primavera/verão de 2011/12 e 2012/13 em cultivo do milho solteiro, e no milho outonal nas safras 2012 e 2013, consorciado com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés. O delineamento experimental utilizado para as quatro safras foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 5 X 2, ou seja, cinco doses de N em cobertura (0; 30; 60; 90 e 120 kg ha⁻¹), com e sem a inoculação das sementes do milho com *A. brasilense*, na dose de 100 mL para 25 kg de sementes, sendo consorciado com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés nas duas safras outonais. Foram avaliados no florescimento do milho, os teores de nutrientes foliares e o índice de clorofila foliar, e na colheita os componentes da produção e a produtividade de grãos do milho, bem como a produtividade de matéria seca e o teor de proteína bruta da forrageira após o consórcio. A adubação em cobertura, com a dose de N de até 120 kg ha⁻¹, incrementou linearmente os teores nutricionais foliares e a produtividade de grãos do milho irrigado cultivado na primavera/verão no Cerrado, e os teores de proteína bruta do capim-Xaraés em consórcio com o milho outonal. A inoculação das sementes de milho com *A. brasilense*, em cultivo consorciado com capim-Xaraés na época outonal incrementou a nutrição, a altura das plantas e os componentes da produção do milho, entretanto, sem efeito na produtividade de grãos. Plantas de milho advindas de sementes inoculadas com *A. brasilense*, pelo seu maior crescimento vegetativo, proporcionaram menor produção de matéria seca do capim-Xaraés semeado em consórcio com o milho outonal.

Palavras-chave: *Urochloa brizantha*. Bactérias diazotróficas. *Zea mays*. Nitrogênio. Integração lavoura-pecuária.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate doses of nitrogen, with and without seed inoculation with bacteria *Azospirillum brasilense* cropped in spring/summer of 2011/12 and 2012/13 in single corn crop, and corn in autumn cropped in 2012 and 2013, intercropped with *Urochloa brizantha* cv. Xaraés. The experimental design for the four cropped was a randomized complete block design with four replications in a factorial 5 X 2, or five N topdressing (0, 30, 60, 90 and 120 kg ha⁻¹) with and without the inoculation of corn seeds with *A. brasilense* at a dose of 100 mL per 25 kg of seed being intercropped by *Urochloa brizantha* cv. Xaraés the two autumnal cropped. Were evaluated at corn flowering, the levels of foliar nutrients and chlorophyll index, and crop yield components and grain yield of corn as well as the productivity of dry matter and crude protein content of the forage after the consortium. The topdressing, with N rates up to 120 kg ha⁻¹, increased linearly foliar nutrient levels and grain yield of irrigated corn grown in the spring/summer in the Cerrado soil, and crude protein of grass Xaraés in consortium with the autumnal corn. Inoculation of corn seeds with *A. brasilense*, in intercropping with Xaraés grass in autumnal time increased the nutrition, growth in plant height and yield components of corn, however, without effect on grain yield. Corn plants resulting from seeds inoculated with *A. brasilense*, by their greater vegetative growth, providing lower dry matter production of grass seed into Xaraés consortium with autumnal corn.

Keywords: *Urochloa brizantha*. *Zea mays*. Nitrogen. Crop-livestock integration. Diazotrophic-bacteria.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Dados climáticos obtidos junto à estação meteorológica situada na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da FE/UNESP, no município de Selvíria, Mato Grosso do Sul. Período de Novembro/2011 à Agosto/2013..... 25

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Caracterização inicial dos atributos químicos do solo na profundidade de 0-0,20 m. Selvíria, Mato Grosso do Sul. 2011 e 2012..... 26
- Tabela 2-** Valores de F e médias de Índice de clorofila foliar (ICF) e teores de nutrientes foliares no florescimento pleno do milho AG 8088 YG, em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2011/2012..... 39
- Tabela 3-** Valores de F e médias de diâmetro basal do colmo (DC), altura da planta (ALTP), altura da inserção da espiga principal (AIEP), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), estande final de plantas por hectare (EFP), número de espigas por hectare (NE), massa em 100 grãos (M100), produtividade de grãos de milho (PG), em função das doses de nitrogênio em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2011/2012..... 40
- Tabela 4-** Valores de F e médias de índice de clorofila foliar (ICF) e teores de nutrientes foliares no florescimento pleno do milho AG 8088 YG, em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012/2013..... 43

- Tabela 5-** Valores de F e médias de diâmetro basal do colmo (DC), altura da planta (ALTP), altura da inserção da espiga principal (AIEP), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), estande final de plantas por hectare (EFP), número de espigas por hectare (NE), massa em 100 grãos (M100), produtividade de grãos de milho (PG), em função das doses de nitrogênio em kg ha^{-1} , e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012/2013..... 45
- Tabela 6-** Valores de F e médias de teores de macronutrientes foliares no florescimento pleno do milho AG 8088 YG (cultivo outonal), em função das doses de N em kg ha^{-1} , e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012..... 47
- Tabela 7-** Valores de F e médias de produtividade de massa seca e teor de proteína bruta (PB) do capim-Xaraés (*Urochloa brizantha*) em consórcio com o milho AG 8088 YG (cultivo outonal), em função das doses de N em kg ha^{-1} , e inoculação ou não das sementes do milho com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012..... 48
- Tabela 8-** Valores de F e médias de diâmetro basal do colmo (DC), altura de planta (ALTP), altura da inserção da espiga principal (AIEP), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), estande final de plantas por hectare (EFP), número de espigas por hectare (NE), massa em 100 grãos (M100) e produtividade de grãos de milho outonal (PG), em função das doses de nitrogênio em kg ha^{-1} , e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012..... 49

- Tabela 9-** Valores de F e médias dos teores de macronutrientes foliares no florescimento pleno do milho AG 8088 YG (cultivo outonal), em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2013..... 51
- Tabela 10-** Valores de F e médias de produtividade de massa seca e teor de proteína bruta (PB) do capim-Xaraés (*Urochloa brizantha*) em consórcio com o milho AG 8088 YG (cultivo outonal), em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes do milho com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2013..... 52
- Tabela 11-** Valores de F e médias de diâmetro basal do colmo (DC), altura de planta (ALTP), altura da inserção da espiga principal (AIEP), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), estande final de plantas por hectare (EFP), número de espigas por hectare (NE), massa em 100 grãos (M100), produtividade de grãos de milho outonal (PG), em função das doses de nitrogênio em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2013..... 55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Nitrogênio e a cultura do milho.....	14
2.2 Adubação nitrogenada.....	14
2.3 Uso do <i>A. brasilense</i> em culturas.....	17
2.4 Uso de <i>Urochloa brizantha</i> em consórcio com milho.....	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Caracterização do local de origem dos dados	24
3.2 Cultivo de milho na safra de primavera/verão (2011/2012 e 2012/2013)...	25
3.2.1 Caracterização inicial do solo pesquisado.....	25
3.2.2 Número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas endofíticas presentes no solo da área experimental	26
3.2.3 Controle de qualidade do inoculante	26
3.2.4 Tratamentos e Delineamento Experimental	27
3.2.5 Dessecação da flora daninha da área experimental	27
3.2.6 Implantação do Experimento.....	28
3.2.6.1 Safra 2011/2012.....	28
3.2.6.2 Safra 2012/2013.....	28
3.2.7 Avaliações Fitotécnicas.....	29
3.2.7.1 Análises foliares dos teores nutricionais.....	29
3.2.7.2 Índice de Clorofila Foliar.....	29
3.2.7.3 Avaliações morfológicas das plantas	30
3.2.7.4 Componentes de produção.....	30
3.2.7.5 Produtividade de grãos.....	30
3.2.8 Análise estatística dos atributos estudados.....	30
3.3 Cultivo de milho em consórcio com <i>Urochloa brizantha</i> cv. Xaraés na safra outonal (2012 e 2013).....	31
3.3.1 Tratamentos e Delineamento Experimental	31
3.3.2 Dessecação da flora daninha da área experimental	32
3.3.3 Implantação do Experimento.....	32
3.3.3.1 Safra Outonal 2012.....	32
3.3.3.2 Safra Outonal 2013.....	33
3.3.4 Avaliações Fitotécnicas.....	34
3.3.4.1. Análises foliares dos teores nutricionais	34
3.3.4.2 Avaliações morfológicas das plantas	34
3.3.4.3 Componentes de produção.....	34
3.3.4.4 Produtividade de grãos.....	35
3.3.4.5 Produtividade de matéria seca e análise bromatológica da <i>Urochloa brizantha</i> cv. Xaraés.....	35
3.3.5 Análise estatística dos atributos estudados.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 Cultivo de milho na safra primavera/verão (2011/2012 e 2012/2013)	37

4.1.1 Safra 2011/2012.....	37
4.1.2 Safra 2012/2013.....	41
4.2 Cultivo de milho em consórcio com Urochloa brizantha cv. Xaraés na safra outonal (2012 e 2013).....	46
4.2.1 Safra Outonal 2012	46
4.2.2 Safra Outonal 2013	50
5 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

O milho é um cereal de grande importância para o agronegócio brasileiro e mundial por ser considerado o principal insumo na fabricação de ração animal. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2014), a produção brasileira de milho na safra 2013/2014 foi 77,89 milhões de toneladas em 15,73 milhões de hectares, resultando uma produtividade de 4.953 kg ha⁻¹.

Por ser uma das culturas de maior importância econômica no Brasil e no mundo, quer seja para a alimentação humana ou para a nutrição animal, é uma das culturas mais exigentes em fertilizantes, principalmente os nitrogenados.

O nitrogênio é um dos nutrientes que proporciona os efeitos mais relevantes no aumento da produção de grãos. Porém, os fertilizantes nitrogenados utilizados em larga escala na agricultura moderna são oriundos de combustíveis fósseis que são fontes não renováveis, além de ser um dos insumos que mais oneram o custo de produção do milho.

Com isso, novas tecnologias, como a inoculação de sementes, estão sendo empregadas para diminuir o uso de nutrientes minerais oriundos de material não renovável, como é o caso das bactérias diazotróficas. Dentre as quais se destacam as do gênero *Azospirillum*, caracterizadas como promotora de crescimento vegetal, que tem efeito também na nutrição das plantas.

No consórcio do milho com *Urochloa*, a forrageira pode ser utilizada para formação de palha para o sistema plantio direto durante o período que antecede o cultivo de inverno do trigo e do feijão. Assim, o consórcio, manejado corretamente, proporciona o aumento da quantidade de palha, visando a melhor cobertura do solo para a realização do plantio direto e em alguns casos o aumento de produtividade na cultura sucessora (CHIODEROLI et al., 2010). No consórcio entre milho e forrageiras, a cultura a ser implantada em sucessão no sistema plantio direto, poderá ser favorecida pela ciclagem dos nutrientes acumulados na parte aérea das culturas antecessoras (BATISTA et al., 2011). As plantas de coberturas, principalmente as gramíneas, integradas de forma planejada ao sistema de rotação de culturas, proporcionam alto potencial de produção de

fitomassa de elevada relação C/N, garantindo a cobertura do solo por um período mais longo (BORGHI et al., 2008).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi o de avaliar doses de nitrogênio em cobertura, com e sem a inoculação das sementes com a bactéria *Azospirillum brasilense*, nas safras de primavera/verão de 2011/12 e 2012/13 em cultivo do milho solteiro, e no milho outonal nas safras 2012 e 2013, consorciado com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés, sobre os teores de nutrientes foliares, os componentes da produção e produtividade de grãos de milho, além do teor de proteína bruta e produção de matéria seca do capim-Xaraés.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nitrogênio e a cultura do milho

O milho é uma das culturas mais exigentes em fertilizantes, principalmente os nitrogenados, apresentando incrementos em vários atributos da planta que influenciam na produtividade final (OHLAND et al., 2005). Este cereal necessita de quantidades elevadas de nitrogênio, a qual dificilmente será suprida pelo solo, necessitando o uso de outras fontes suplementares. Uma alternativa para redução do uso de fertilizantes minerais, que é boa parte importada, é o uso da inoculação das sementes por bactérias diazotróficas.

A demanda por proteína de origem animal cresceu significativamente o Brasil, o que conseqüentemente aumentou a procura por este cereal. A dificuldade de atender esta crescente demanda, a competição com outras culturas pela ocupação da atual fronteira agrícola e a forte perspectiva de expansão de mercados externos para este cereal, seus derivados, e para aves e suínos, alertam a pesquisa para a necessidade de trabalhos que objetivem obter maior eficiência na atividade produtiva e maior competitividade no mercado (PARIZ et al., 2009).

Portanto, o estabelecimento de práticas de manejo que otimizem os insumos aplicados, especialmente de fertilizantes, pode contribuir para aumentar a produtividade nas lavouras e reduzir o custo de produção. Dentre estas práticas, a adubação nitrogenada se faz necessária devido à insuficiente quantidade que o solo fornece para o adequado crescimento das plantas. Esta situação é particularmente importante para a cultura do milho, uma vez que, entre os nutrientes que influenciam a sua produtividade, o N é um dos mais absorvidos durante o ciclo de desenvolvimento das plantas (SCALCO et al., 2003).

2.2 Adubação nitrogenada

Na cultura do milho, a adubação nitrogenada apresenta grande importância, pois, o N é um dos nutrientes que apresenta os efeitos mais relevantes do

aumento da produção de grãos (FERNANDES; LIBARDI; TRIVELIN, 2008), uma vez que é requerido em grandes quantidades, fazendo parte da clorofila, e compondo substâncias como proteínas, enzimas e ácidos nucleicos (GROSS et al., 2006). No entanto, os fertilizantes nitrogenados amplamente utilizados na agricultura moderna são oriundos de combustíveis fósseis que são fontes não renováveis, e como Cantarella (2007) relata, tais fertilizantes são dos insumos mais caros do custo de produção da cultura do milho.

Segundo Andreucci (2007), o nitrogênio é um dos elementos mais exigidos e fornecidos em sistemas agrícolas. O manejo de adubações nitrogenadas é um dos mais complexos, devido a fatores relacionados ao custo dos fertilizantes nitrogenados, decorrentes de problemas na eficiência de algumas fontes (MENEZES, 2004) pela da grande quantidade de energia demandada para a sua obtenção (VITTI et al., 1984) e ao potencial poluente desse elemento, tanto para as águas de superfície quanto subterrâneas.

A disponibilidade de nitrogênio associada à população de plantas na colheita e a disponibilidade de luz durante o ciclo da cultura de milho são três dos principais fatores de produção (FANCELLI ; DOURADO NETO, 2000).

Resultados experimentais obtidos por vários autores, sob diversas condições de solo, clima e sistemas de cultivo, mostram respostas generalizadas do milho à adubação nitrogenada; cerca de 70% a 90% dos ensaios de adubação com milho, realizados em campo, no Brasil, foram responsivos à aplicação de nitrogênio (CRUZ et al., 2005). Contudo, ressalta-se que a eficiência da adubação depende, dentre outros fatores, das condições climáticas, do tipo de solo e da capacidade de extração de nutrientes pelas plantas, durante o cultivo (NEUMANN et al., 2005).

A absorção de N pelas plantas de milho ocorre em todo seu ciclo vegetativo, sendo pequena no primeiro mês, aumenta consideravelmente a partir daí, atingindo taxa superior a $4,5 \text{ kg ha}^{-1}$ de N por dia, durante todo o florescimento (CRUZ et al., 1996). Entre 25 e 45 dias, a planta de milho chega a acumular 43% do N que necessita e, entre as fases de desenvolvimento pleno, ainda vai absorver 31% de suas necessidades totais (MUZILLI et al., 1989).

Assim, o parcelamento visando ao aumento da eficiência da adubação nitrogenada, constitui uma prática recomendada (COSTA ; OLIVEIRA, 1998). Estima-se que a necessidade de N para produção de uma tonelada de grãos varie de 20 a 28 kg ha⁻¹ (CANTARELLA, 1993).

Cantarella (1999) constatou que em solos argilosos, as áreas com baixo potencial de produção de milho não responderam à adição de N, ao passo que nos ensaios com probabilidade de maiores produtividades, as respostas médias mais econômicas situaram-se em torno de 30 a 40 kg ha⁻¹ de nitrogênio. Em solos arenosos, as respostas ao N foram altas, mesmo quando os patamares de produtividade foram baixos, e a dose mais econômica foi de 55 kg ha⁻¹ de nitrogênio. A aplicação de 30 kg ha⁻¹ de N na semeadura resultou semelhança ao da aplicação em cobertura. O autor explica que isto deveu-se à pequena perda por lixiviação de nitrato, por causa da incidência de chuvas no período de safrinha.

A adubação nitrogenada em cobertura tem sido bastante efetiva, ao minimizar as perdas do nutriente aplicado e atender à demanda da cultura, devendo-se levar em consideração a fenologia da cultura do milho, as condições climáticas e o tipo de solo, pois o parcelamento indiscriminado do adubo nitrogenado em cobertura pode comprometer os retornos econômicos da adubação (BÜLL, 1993; FRANÇA et al., 1994).

Dourado Neto e Fancelli (1997) argumentam sobre a importância da incorporação do fertilizante nitrogenado, especialmente no sistema plantio direto quando a fonte for ureia, estimando-se um índice de aproveitamento de 70% a 90% em decorrência dessa prática.

Dentre as práticas de manejo, a adubação nitrogenada é um aspecto importante a ser considerado, pois a aplicação de N em culturas ou pastagem, além de proporcionar maior produtividade, permite a distribuição mais uniforme da forragem e um ciclo de produção maior (HERINGER ; MOOJEN, 2002) com aumento na produção animal (PARIZ et al., 2009).

Os gastos com fertilizantes na cultura são altos, assim, a demanda por adubações pode muitas vezes, elevar os custos de produção. Tais custos podem ser minimizados fazendo-se com que as plantas tenham sistema radicular mais

desenvolvido, capaz de explorar melhor os nutrientes e a água do solo proporcionando melhores condições de desenvolvimento e aumento de produtividade (PRADO et al., 2001).

Devido à crescente busca por sustentabilidade nos sistemas agrícolas de produção, alguns autores têm apresentado como forma alternativa para a economia de fertilizantes nitrogenados, a fixação biológica de nitrogênio (FBN), a qual pode complementar ou, até mesmo, substituir a utilização destes fertilizantes (REIS JÚNIOR et al., 1998; BERGAMASCHI, 2006).

A FBN é um processo de transformação do N_2 na forma inorgânica combinada NH_3 , e a partir daí, em formas reativas orgânicas e inorgânicas. A reação de redução do N_2 a NH_3 é realizada por microrganismos que contêm a enzima nitrogenase e são conhecidos como fixadores de N_2 ou diazotróficos (BERGAMASCHI, 2006). Várias bactérias diazotróficas foram isoladas da cultura de milho, destacando-se as espécies *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, sendo as espécies mais estudadas as do gênero *Azospirillum* (REIS et al., 2000).

2.3 Uso do *A. brasilense* em culturas

Entre as bactérias diazotróficas, destacam-se as do gênero *Azospirillum* que podem colonizar raízes e colmos das plantas. Esta é uma alternativa promissora, pois esses microrganismos irão atuar na disponibilidade de N para a planta, além da produção de auxinas, substâncias responsáveis pelo estímulo do crescimento da planta, podendo reduzir a utilização de fertilizantes nitrogenados sintéticos na cultura do milho (REIS JÚNIOR et al., 2008).

As bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum* são fixadoras de nitrogênio atmosférico, que na rizosfera das plantas podem contribuir com a sua nutrição. De acordo com Cavalett et al. (2000), o efeito da bactéria *A. brasilense* no desenvolvimento das gramíneas, tem sido pesquisado não somente quanto ao efeito na produtividade das culturas, mas também com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam essa produtividade, tanto de matéria seca quanto de grãos.

A utilização de bactérias diazotróficas como alternativa para aumentar a disponibilidade de nitrogênio para as culturas pode ser uma opção menos onerosa e mais viável ecologicamente em sistemas agrícolas. Diante desta constatação, várias pesquisas tem sido conduzidas visando verificar as potencialidades da utilização do *A. brasilense* (CARDOSO, 2008).

Nos trabalhos de Boddey e Döbereiner (1995) foram descobertas as potencialidades das bactérias diazotróficas microaeróbias, destacando-se as do gênero *Azospirillum*, fixadoras de nitrogênio atmosférico quando em vida livre, as quais, quando associadas à rizosfera das plantas podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada dessas plantas. Outro fator a ser considerado é que certas gramíneas, como as braquiárias, em cultivos sucessivos podem ser hospedeiras de bactérias diazotróficas nativas do solo, como citado por Hungria (2011).

As bactérias do gênero *Azospirillum* ganharam grande destaque mundialmente a partir da década de 1970 (DÖBEREINER ; DAY, 1976; DÖBEREINER et al., 1976), com a descoberta pela pesquisadora da Embrapa, Dra. Johanna Döbereiner (1924-2000), da capacidade de fixação biológica do nitrogênio dessas bactérias quando em associação com gramíneas.

Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) podem auxiliar por diversos mecanismos na nutrição nitrogenada das culturas. As bactérias diazotróficas mais estudadas como BPCPs associativas, ou seja, que não formam uma simbiose com a planta hospedeira, são as bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum* (CAVALLET et al., 2000; SALA et al., 2008).

As BPCP podem estimular o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de nitrogênio (HUERGO et al., 2008); aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (CASSÁN et al., 2008); produção de hormônios como auxinas, citocininas (TIEN et al., 1979), giberilinas (BOTTINI et al., 1989), etileno (STRZELCZYK et al., 1994) e uma variedade de outras moléculas (PERRIG et al., 2007); solubilização de fosfato (RODRIGUEZ et al.,

2004); e por atuarem como agente de controle biológico de patógenos (CORREA et al., 2008).

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de BPCP de vida livre que é encontrado em quase todos os lugares da Terra; há relatos, também, de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas (DÖBEREINER ; PEDROSA, 1987; HUERGO et al., 2008). A espécie *Spirillum lipoferum* foi inicialmente descrita por Beijerinck e, em 1978, foi proposta a sua reclassificação como *Azospirillum*, juntamente com a descrição de duas espécies, *Azospirillum lipoferum* e *Azospirillum brasilense* (TARRAND et al., 1978); hoje estão descritas 14 espécies no gênero.

A propriedade de fixar nitrogênio em vida livre foi responsável pela mudança no nome do gênero *Spirillum* (TARRAN et al., 1978), sendo adicionado o prefixo “azo”, alusivo ao nome utilizado por Lavoisier para denominar o elemento nitrogênio. É curioso mencionar que a palavra “azote” foi dada por Lavoisier por considerar o nitrogênio como um elemento tão inerte que seria “impróprio para manter a vida”. Hoje, porém, sabe-se que o nitrogênio é a base de toda a vida do planeta, por ser constituinte fundamental dos ácidos nucleicos, aminoácidos e proteínas.

Resultados da interação bactérias diazotróficas e milho em termos de potencial agrônômico, fixação de nitrogênio ou promoção do crescimento, depende de muitos fatores bióticos e ambientais, tais como genótipo da planta, comunidade microbiológica do solo e disponibilidade de nitrogênio (ROESCH et al., 2006). Na literatura existem vários trabalhos confirmando que *Azospirillum* produz fitohormônios que estimulam o crescimento das raízes de diversas espécies de plantas. Tien et al. (1979), por exemplo, verificaram que os componentes responsáveis pelo estímulo do crescimento de raízes liberados por *Azospirillum brasilense* eram o ácido indol-acético (AIA), giberelinas e citocininas.

Baseando-se em dados acumulados durante 22 anos de pesquisa com experimentos de inoculação a campo, Okon e Vanderleyden (1997) concluíram que o gênero *A. brasilense* promove ganhos em produtividade de importantes culturas, nas mais variadas condições de clima e solo. Contudo, salientam que o

ganho com *A. brasilense* vai mais além do que simplesmente auxiliar na fixação biológica do N, auxiliando também no aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de substrato do solo explorado. Tal constatação é justificada pelo fato da inoculação modificar a morfologia do sistema radicular, aumentando não apenas o número de radículas mas, também, o diâmetro da raízes laterais e adventícias. Pelo menos parte, ou talvez muitos desses efeitos de *A. brasilense* nas plantas, possam ser atribuídos à produção, pela bactéria, de substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, giberelinas e citocininas, e não somente a fixação biológica de nitrogênio.

Segundo Salomone e Döbereiner (1996), em estudos da resposta de vários genótipos de milho à inoculação de quatro estirpes de *A. brasilense* isoladas na Argentina e três de raízes de sorgo e milho isoladas no Brasil, constataram aumento de massa dos grãos, variando em diferentes genótipos, da ordem de 1.700 a 7.300 kg ha⁻¹; entretanto, esses resultados foram muito influenciados pelas condições de solo, ambiente e genótipos de planta.

Sobre as respostas fisiológicas induzidas por *Azospirillum*, Barassi et al. (2008) relataram a melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila e condutância estomática, maior reserva de prolina, incremento no teor de água do apoplasto, maior elasticidade da parede celular, maior produção de biomassa e maior altura de plantas.

Bashan et al. (2004) constataram incremento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a e b, e pigmentos fotoprotetivos auxiliares, como violaxantina, zeaxantina, atheroxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno, que resultariam em plantas mais verdes e com menor suscetibilidade ao estresse hídrico.

Muitos estudos têm demonstrado que o *Azospirillum* estimula o crescimento e a produtividade de várias espécies de plantas, sendo muitas delas com grande relevância agrônômica e ecológica (OKON ; LABANDERA-GONZALEZ, 1994; BASHAN ; HOLGUIN, 1997; BASHAN et al., 2004).

Em levantamento realizado na Argentina, com 273 ensaios de inoculação com *Azospirillum brasilense* em trigo (*Triticum aestivum* L.), em 76% dos casos

houve aumento médio na produtividade de 256 kg ha⁻¹; em milho (*Zea mays* L.), 85% dos casos responderam positivamente, com um aumento médio na produtividade de 472 kg ha⁻¹ (DÍAZ-ZORITA ; FERNANDEZ CANIGIA, 2008). Os resultados de outros experimentos conduzidos na Argentina e no Brasil nas últimas décadas foram recentemente compilados e a grande maioria indica benefícios da inoculação com *Azospirillum* no crescimento das plantas e/ou no aumento da produtividade (CASSÁN ; GARCIA DE SALAMONE, 2008).

O aumento da produtividade devido à inoculação com *Azospirillum* nos ensaios conduzidos no Brasil é correlacionado não só com o aumento na absorção de N, mas também com outros nutrientes, como o P e K, fato também relatado em outros países (BASHAN ; HOLGUIN, 1997; STEENHOUDT e VANDERLEYDEN, 2000; BASHAN et al., 2004).

Em Israel, onde os solos possuem baixa ou nenhuma comunidade nativa de bactérias diazotróficas endofíticas, as respostas à inoculação foram mais consistentes e a recomendação de inoculação pode fazer parte do manejo da cultura (OKON, 1985). Em certos países, como a Itália e a França, o inoculante com *Azospirillum* é produzido comercialmente e recomendado para a cultura do milho, promovendo resultados positivos independentemente do cultivar ou do tipo de solo e substituindo de 35 a 40 % do adubo nitrogenado (OKON ; LABANDERA-GONZALEZ, 1994).

Cavallet et al. (2000), em experimento realizado em campo sob sistema plantio direto, testando a inoculação de *A. brasilense* em sementes de milho, sobre as variáveis agrônômicas da cultura, concluíram que a inoculação promoveu aumento significativo na produtividade de grãos de milho, com média de 17%. Aumentou também o comprimento médio das espigas de milho, de 13,6 para 14,4 cm, ou seja, aumento médio de 6%. Porém, não houve efeito sobre a altura de plantas nem sobre o número de fileiras de grãos por espiga.

2.4 Uso de *Urochloa brizantha* em consórcio com milho

O sistema plantio direto (SPD) tem o objetivo de se obter um adequado manejo físico, químico e biológico do solo. Estimula-se a adoção da rotação de culturas para manter e/ou aumentar os teores de matéria orgânica, criar poros biológicos, melhorar a estrutura e manter palha suficiente na superfície do solo (SILVEIRA et al., 2008).

Dentre os efeitos físicos promovidos pela cobertura vegetal estão a melhoria na estrutura do solo (agregação), aumento de sua porosidade, e conseqüentemente da infiltração da água e aeração do solo. Com efeitos químicos são o possível aumento do teor de matéria orgânica do solo ao longo dos anos de cultivo, aumento da disponibilidade de nutrientes e aumento da CTC efetiva. Por fim, dentre os efeitos biológicos destacam-se a melhoria da atividade da macro e microfauna do solo, responsáveis pela maioria das reações dos ciclos do carbono e nitrogênio.

O maior entrave para a sustentabilidade do SPD está na escolha de plantas para a cobertura, devendo-se levar em consideração a velocidade de degradação desses resíduos vegetais que está diretamente relacionada com a água e a temperatura que atuam sobre a atividade dos organismos decompositores, ou seja, quando há maior disponibilidade de nutrientes é maior a fração da fitomassa degradada (KHATOUNIAN, 1999), o que ocorre normalmente em regiões tropicais e subtropicais.

A produção de fitomassa é imprescindível para o sistema, pois protege o solo da erosão, contribui para melhoria da fertilidade, aumenta a infiltração e disponibilidade de água para as plantas, minimizando os impactos ao ambiente (ANDRIOLI et al., 2008). Teixeira et al. (2008) completam afirmando que o sucesso na implantação e no estabelecimento do sistema plantio direto (SPD) está fortemente relacionado com a alta produção de fitomassa nos sistemas de rotação, sem a qual os objetivos e vantagens dessa forma de cultivo não são alcançados.

Como certas gramíneas forrageiras podem ser hospedeiras de bactérias diazotróficas nativas do solo, como citado por Hungria (2011), o milho cultivado

em consórcio com forrageiras do gênero *Urochloa*, pode ser uma alternativa na melhoria da nutrição, do crescimento e produtividade das culturas, visando à redução dos custos de produção.

Em consórcio com forrageiras, especificamente as *Urochloas*, várias culturas têm sido empregadas, porém o milho tem sido a preferida, devido à sua tradição de cultivo e ao grande número de cultivares comerciais adaptados a diferentes regiões do Brasil. Resultados apresentados por Severino et al. (2005), relatam produtividade da cultura do milho da ordem de 4.000 kg ha⁻¹ obtido no tratamento de consorciação com *U. decumbens*, enquanto que Tsumanuma (2004) obteve produtividade de 9.280 kg ha⁻¹ de milho em consórcio com a mesma espécie de *Urochloa*. No mesmo trabalho o autor verificou que o desempenho da *Urochloa decumbens* semeada no estádio V4 do milho, apresentou uma produção de 9.052 kg ha⁻¹ de matéria verde e 3.160 kg ha⁻¹ de matéria seca aos 60 dias após a semeadura. Houve também produção de matéria verde e matéria seca da *U. decumbens*, ao longo do ciclo da cultura, sem, contudo, causar queda na produção de grãos do milho.

Avaliando a quantidade de palha remanescente na superfície do solo, antes da semeadura da safra de verão seguinte, Borghi et al. (2008) obtiveram valores da ordem de 7 a 13 t ha⁻¹ na área onde foi utilizado o consórcio de milho com *U. brizantha*, independente da forma de estabelecimento da forrageira (na linha, na entrelinha ou na linha e entrelinha do milho) ou do espaçamento do milho (0,45 m e 0,90 m). Esses valores foram significativamente superiores à média observada na área com milho solteiro (2,5 t ha⁻¹) sete meses após a colheita.

3 MATERIAL E MÉTODOS

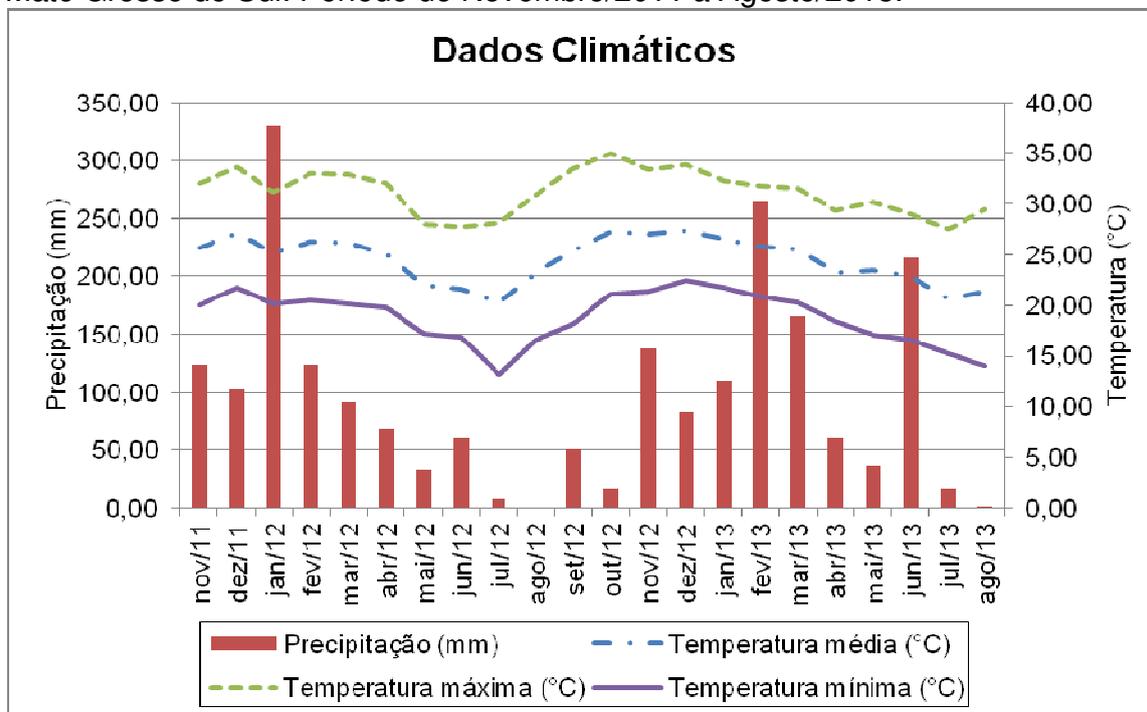
3.1 Caracterização do local de origem dos dados

O trabalho foi desenvolvido em área irrigada (pivô central), na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) – Setor de Produção Vegetal, da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FE/UNESP), localizada no município de Selvíria-MS, entre as latitudes de 20°18'05"S e 20°18'28"S e as longitudes de 52°39'02"W e 52°40'28"W, altitude de 370 m.

O tipo climático é Aw, segundo classificação de Köppen, caracterizado como tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno. Durante a condução do experimento foram coletados mensalmente, junto à estação meteorológica situada na FEPE, os dados diários referentes às temperaturas máxima, média e mínima, e precipitação pluvial, conforme pode ser observado na Figura 1. Os dados climáticos estão de acordo com a média histórica da região, com precipitação pluvial média anual de 1370 mm, temperatura média de 23,5°C e umidade relativa do ar (UR%) entre 70-80%.

O solo, segundo o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2006), é um LATOSSOLO VERMELHO Distrófico textura argilosa.

Figura 1- Dados climáticos obtidos junto à estação meteorológica situada na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da FE/UNESP, no município de Selvíria, Mato Grosso do Sul. Período de Novembro/2011 à Agosto/2013.



Fonte: Do próprio autor.

3.2 Cultivo de milho na safra de primavera/verão (2011/2012 e 2012/2013)

3.2.1 Caracterização inicial do solo pesquisado

O solo no qual o milho foi cultivado na safra 2011/2012, estava em Sistema Plantio Direto há nove anos, sendo a cultura anterior feijão de inverno. Portanto, com objetivo de caracterizá-lo inicialmente, isto é, antes da semeadura do milho foram efetuadas amostragens em vinte perfis de gradagem para a coleta do solo com estrutura deformada, realizados com um trado de rosca na profundidade de 0 a 0,20 m. O solo contido na amostra composta, originada das vinte amostras simples foi destinado à análise química para fins de fertilidade (RAIJ et al., 2001) cujos resultados constam na Tabela 1.

Antes da semeadura do milho da safra 2012/2013, que foi cultivado na mesma área, foi realizada a amostragem de solo e análise química para fins de

fertilidade (09/10/2012), da mesma forma que foi realizada na safra 2011/2012, cujos resultados constam na Tabela 1.

Tabela 1- Caracterização inicial dos atributos químicos do solo na profundidade de 0-0,20 m. Selvíria, Mato Grosso do Sul. 2011 e 2012.

Ano	P	MO	pH	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	S-SO ₄	V	m
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	(CaCl ₂)				mmol _c dm ⁻³				mg dm ⁻³	%	
2011	68	23	5,8	2,6	34	26	20	0	62,6	82,6	2	76	0
2012	42	22	4,9	3,1	23	19	31	2	45,1	76,1	5	59	4

3.2.2 Número mais provável (NMP) de bactérias diazotróficas endofíticas presentes no solo da área experimental

Antes da semeadura do milho da Safra 2011/2012 foi realizada amostragem do solo na camada de 0 a 0,20 m (20 subamostras na área), para a contagem de microrganismos diazotróficos e determinação da população de bactérias em número de células por mL, realizada pela estimativa do Número Mais Provável (NMP) usando a tabela de MacCrady em meio semi-sólido NFB (*A. brasilense*) de acordo com metodologia descrita por Döbereiner et al. (1995). Os resultados de Análise de Contagem de Microorganismos Diazotróficos no Solo do Experimento foram de 9×10^8 células g⁻¹. As análises foram realizadas no Centro de Ciências Agrárias da UNIOESTE, Campus de Marechal Cândido Rondon – PR.

3.2.3 Controle de qualidade do inoculante

Alíquotas do lote do inoculante utilizado no trabalho (inoculante com *A. brasilense* na forma líquida AZO Total) foram utilizadas para realização do controle de qualidade dos inoculantes, levando-se em consideração o número de células viáveis por mL de inoculante, ou seja, unidades formadoras de colônia (UFC). Esse procedimento foi baseado na Instrução Normativa n° 30, de 12 de novembro de 2010 (MAPA). O meio NFB (DÖBEREINER et al., 1995) foi o meio de cultura utilizado, cujos resultados foram de $2,57 \times 10^8$ UFC mL⁻¹. As análises foram

realizadas no Centro de Ciências Agrárias da UNIOESTE, Campus de Marechal Cândido Rondon – PR.

3.2.4 Tratamentos e Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado para as duas safras foi em blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 5 X 2, ou seja, cinco doses de nitrogênio em cobertura (0; 30; 60; 90 e 120 kg ha⁻¹), com e sem a inoculação das sementes do milho com a bactéria diazotrófica *A. brasilense*, fornecida pelo inoculante AZO Total (EMBRAPA), na dose de 100 mL para 25 kg de sementes.

A fonte de N para a adubação de cobertura foi a ureia. Cada parcela foi constituída por 4 linhas de milho, com 6 m de comprimento, perfazendo 21,60 m². Foram utilizadas sementes do híbrido simples AG 8088 YG nos dois cultivos, no espaçamento de 0,90 m entrelinhas, visando uma população final entre 55 e 60 mil plantas ha⁻¹. A adubação de semeadura foi de 400 kg ha⁻¹ da fórmula 04-30-10 na Safra 2011/2012 e de 350 kg ha⁻¹ da fórmula 08-28-16 na Safra 2012/2013, baseado em Cantarella et al. (1996).

3.2.5 Dessecação da flora daninha da área experimental

Nas duas safras foram realizadas as dessecações das plantas daninhas da área experimental, visando à formação de palhada para o SPD, utilizando-se o herbicida Glyphosate (1,44 kg ha⁻¹ do ingrediente ativo (i.a.)), com posterior ceifa das plantas utilizando triturador horizontal de resíduos vegetais (Triton).

3.2.6 Implantação do Experimento

3.2.6.1 Safra 2011/2012

A cultura do milho (híbrido simples AG 8088 YG) foi semeada em 10/11/2011, mecanicamente com uso de uma semeadora-adubadora com mecanismo sulcador tipo haste (facão) para sistema plantio direto (SPD), com espaçamento de 0,90 m entrelinhas e com uma população final entre 55 e 60 mil plantas ha^{-1} . Cada parcela foi constituída por 4 linhas de milho, com 6 m de comprimento, perfazendo 21,60 m^2 . A inoculação das sementes com o inoculante líquido com a bactéria diazotrófica *A. brasilense*, fornecida pelo inoculante AZO total (EMBRAPA) na dose de 100 mL para 25 kg de sementes foi realizada momentos antes da semeadura, à sombra.

Foi realizada a adubação de semeadura com aplicação de 400 kg ha^{-1} do formulado 04-30-10 (16 kg ha^{-1} de N, 120 kg ha^{-1} de P_2O_5 e 40 kg ha^{-1} de K_2O , respectivamente). Como adubação de cobertura (09/12/2011), foram aplicadas as doses de N (fonte uréia) com o milho no estágio fenológico de V6 (seis folhas totalmente desenvolvidas), irrigando-se a área em seguida a fim de se evitar perdas excessivas de N por volatilização.

3.2.6.2 Safra 2012/2013

Para a Safra 2012/2013, o milho (híbrido simples AG 8088 YG) foi semeado em 16/10/2012, mecanicamente com uso de uma semeadora-adubadora com mecanismo sulcador tipo haste (facão) para sistema plantio direto (SPD) com espaçamento de 0,90 m entrelinhas e com uma população final entre 55 e 60 mil plantas ha^{-1} . Cada parcela, alocada na mesma área experimental, foi constituída novamente por 4 linhas de milho, com 6 m de comprimento, perfazendo 21,60 m^2 .

A inoculação das sementes com o inoculante líquido com a bactéria diazotrófica *A. brasilense*, fornecida pelo inoculante AZO total (EMBRAPA) na

dose de 100 mL para 25 kg de sementes foi realizada momentos antes da semeadura, à sombra.

Foi realizada a adubação de semeadura com aplicação de 350 kg ha⁻¹ do formulado 08-28-16 (28 kg ha⁻¹ de N, 98 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 56 kg ha⁻¹ de K₂O, respectivamente). Como adubação de cobertura (09/11/2012), foram aplicadas as doses de N (fonte ureia), irrigando-se a área em seguida a fim de se evitar perdas excessivas de N por volatilização.

3.2.7 Avaliações Fitotécnicas

3.2.7.1 Análises foliares dos teores nutricionais

Quando as plantas de milho atingiram o estágio de florescimento pleno, 30/12/2011 para a Safra 2011/2012, e 13/12/2012 para a Safra 2012/2013, foram coletadas na área útil da parcela (2 linhas centrais), 20 terços médios das folhas opostas imediatamente abaixo da espiga, secas a 65°C em estufa de circulação forçada de ar até massa constante, moídas e encaminhadas para análise da massa seca quanto aos teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn (MALAVOLTA et al., 1997).

As determinações foram efetuadas no Laboratório de Nutrição de Plantas do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos da Faculdade de Engenharia-FE/UNESP/Campus de Ilha Solteira.

3.2.7.2 Índice de Clorofila Foliar

Nos mesmos dias da coleta de amostras foliares para análises laboratoriais, também foram efetuadas leituras do índice de clorofila foliar (ICF) utilizando-se clorofilômetro digital (CFL 1030 – Falker). As leituras foram realizadas no terço médio das folhas da inserção da espiga principal, utilizando-se em média 10 folhas por parcela.

3.2.7.3 Avaliações morfológicas das plantas

Nos dias da colheita do milho, tanto da Safra 2011/2012 quanto da Safra 2012/2013, foram realizadas medições em 10 plantas/parcela para avaliação do diâmetro médio basal do colmo no 2º entrenó, altura média da planta e altura média de inserção da espiga principal.

3.2.7.4 Componentes de produção

Foram avaliados nos dias da colheita do milho das Safras 2011/2012 e 2012/2013, o número de plantas m^{-1} , em 5 m de linha, para o cálculo do estande final de plantas ha^{-1} . Também foram utilizados esses mesmos 5 m de linha para avaliar o número de espigas m^{-1} e calcular o número de espigas ha^{-1} .

Nestas mesmas datas foram coletadas 10 espigas ao acaso por parcela, para determinação do comprimento e diâmetro da espiga e a massa de 100 grãos (13% base úmida).

3.2.7.5 Produtividade de grãos

A colheita do milho foi realizada no dia 21/03/2012 para a Safra 2011/2012 e no dia 28/02/2013 para a Safra 2012/2013. Para determinação da produtividade foram coletadas todas as espigas da parcela útil (2 linhas centrais, desprezando-se 1 m de cada extremidade), debulhadas em debulhador mecânico e pesadas para conversão em $kg\ ha^{-1}$ (13% base úmida).

3.2.8 Análise estatística dos atributos estudados

Os resultados dos teores de nutrientes foliares, índice ICF, crescimento, componentes da produção e produtividade de grãos de milho para o cultivo das safras de primavera/verão foram tabulados e submetidos à análise de variância,

posteriormente, aplicou-se o teste de Tukey a 5% para comparação de médias quanto ao efeito ou não da inoculação e análise de regressão para doses de N em cobertura. Todos os cálculos foram efetuados utilizando-se o programa de computador SISVAR[®] (FERREIRA, 1999).

3.3 Cultivo de milho em consórcio com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés na safra outonal (2012 e 2013)

Os cultivos de milho em consórcio com o capim-Xaraés foram realizadas na mesma área dos experimentos de primavera/verão, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE), no município de Selvíria - MS, pertencente à Faculdade de Engenharia da UNESP, Campus de Ilha Solteira - SP.

3.3.1 Tratamentos e Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado para as duas safras outonais (safrinhas) foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 5 X 2, ou seja, cinco doses de nitrogênio em cobertura (0; 30; 60; 90 e 120 kg ha⁻¹), com e sem a inoculação das sementes do milho com a bactéria diazotrófica *A. brasilense*, fornecida pelo inoculante AZO Total (EMBRAPA), na dose de 100 mL para 25 kg de sementes, consorciado com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés. A fonte de N para a adubação de cobertura foi o nitrato de amônio. Cada parcela foi constituída por 4 linhas de milho, com 6 m de comprimento, perfazendo 21,60 m².

Foram utilizadas sementes do híbrido simples AG 8088 YG nos dois cultivos, no espaçamento de 0,90 m entrelinhas, visando uma população final entre 55 e 60 mil plantas ha⁻¹. A adubação de semeadura foi na dose de 300 kg ha⁻¹ da fórmula 08-28-16 para as duas safras, baseado em Cantarella et al. (1996).

3.3.2 Dessecação da flora daninha da área experimental

Nas duas safras foram realizadas as dessecações das plantas daninhas da área experimental, visando à formação de palhada para o SPD, utilizando-se o herbicida Glyphosate ($1,44 \text{ kg ha}^{-1}$ do ingrediente ativo (i.a.)), com posterior ceifa das plantas utilizando triturador horizontal de resíduos vegetais (Triton).

3.3.3 Implantação do Experimento

3.3.3.1 Safra Outonal 2012

A cultura do milho (híbrido simples AG 8088 YG) foi semeada em 11/04/2012, mecanicamente com uso de uma semeadora-adubadora com mecanismo sulcador tipo haste (facão) para sistema plantio direto (SPD) com espaçamento de 0,90 m entrelinhas e com uma população final entre 55 e 60 mil plantas ha^{-1} . Cada parcela foi constituída por 4 linhas de milho, com 6 m de comprimento, perfazendo $21,60 \text{ m}^2$.

A inoculação das sementes com o inoculante líquido com a bactéria diazotrófica *A. brasilense*, fornecida pelo inoculante AZO total (EMBRAPA) na dose de 100 mL para 25 kg de sementes foi realizada momentos antes da semeadura, à sombra.

A semeadura da *Urochloa brizantha* cv. Xaraés foi realizada simultaneamente ao milho outonal, sendo efetuada com outra semeadora-adubadora com mecanismo sulcador do tipo disco duplo desencontrado para SPD, onde foram semeadas duas linhas do capim nas entrelinhas da cultura produtora de grãos. As sementes foram acondicionadas no compartimento do fertilizante da semeadora e depositadas na profundidade média de 0,08 m, espaçadas em 0,34 m, utilizando-se aproximadamente 7 kg ha^{-1} de sementes puras viáveis (VC=76%), localizando-se, dessa forma, abaixo da semente de milho, seguindo as recomendações de Kluthcouski et al. (2000).

Foi realizada a adubação de semeadura com aplicação de 300 kg ha⁻¹ do formulado 08-28-16 (24 kg ha⁻¹ de N, 84 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 48 kg ha⁻¹ de K₂O, respectivamente). Como adubação de cobertura (22/05/2012), foram aplicadas as doses de N (fonte nitrato de amônio) com o milho no estágio fenológico V6 (seis folhas totalmente desenvolvidas), irrigando-se a área em seguida.

3.3.3.2 Safra Outonal 2013

Para a Safra Outonal 2013, o milho (híbrido simples AG 8088 YG) foi semeado em 11/04/2013, mecanicamente com uso de uma semeadora-adubadora com mecanismo sulcador tipo haste (facão) para sistema plantio direto (SPD) com espaçamento de 0,90 m entrelinhas e com uma população final entre 55 e 60 mil plantas ha⁻¹. Cada parcela foi alocada na mesma área da safra 2012, sendo novamente constituída por 4 linhas de milho, com 6 m de comprimento, perfazendo 21,60 m².

A inoculação das sementes com o inoculante líquido com a bactéria diazotrófica *A. brasilense*, fornecida pelo inoculante AZO total (EMBRAPA) na dose de 100 mL para 25 kg de sementes foi realizada momentos antes da semeadura, à sombra.

A semeadura da *Urochloa brizantha* cv. Xaraés foi realizada simultaneamente ao milho outonal, sendo efetuada com outra semeadora-adubadora com mecanismo sulcador do tipo disco duplo desencontrado para SPD, onde foram semeadas duas linhas do capim nas entrelinhas da cultura produtora de grãos. As sementes foram acondicionadas no compartimento do fertilizante da semeadora e depositadas na profundidade média de 0,08 m, espaçadas em 0,34 m, utilizando-se aproximadamente 7 kg ha⁻¹ de sementes puras viáveis (VC=76%), localizando-se, dessa forma, abaixo da semente de milho, seguindo as recomendações de Kluthcouski et al. (2000).

Foi realizada a adubação de semeadura com aplicação de 300 kg ha⁻¹ do formulado 08-28-16 (24 kg ha⁻¹ de N, 84 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 48 kg ha⁻¹ de K₂O, respectivamente). Como adubação de cobertura (15/05/2013), foram aplicadas as

doses de N (fonte nitrato de amônio) com o milho no estágio fenológico V6 (seis folhas totalmente desenvolvidas), irrigando-se a área em seguida.

3.3.4 Avaliações Fitotécnicas

3.3.4.1. Análises foliares dos teores nutricionais

Quando as plantas de milho atingiram o estágio de florescimento pleno, 26/06/2012 para a Safra Outonal 2012, e 19/06/2013 para a Safra Outonal 2013, foram coletadas na área útil da parcela (2 linhas centrais), 20 terços médios das folhas opostas imediatamente abaixo da espiga, secas a 65°C em estufa de circulação forçada de ar até massa constante, moídas e encaminhadas para análise da massa seca quanto aos teores de N, P, K, Ca, Mg e S (MALAVOLTA et al., 1997).

As determinações foram efetuadas no Laboratório de Nutrição de Plantas do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos da Faculdade de Engenharia-FE/UNESP/Campus de Ilha Solteira.

3.3.4.2 Avaliações morfológicas das plantas

Nos dias da colheita do milho, tanto da Safra Outonal 2012 quanto da Safra Outonal 2013, foram realizadas medições em 10 plantas/parcela para avaliação do diâmetro médio basal do colmo no 2º entrenó, altura média da planta e altura média de inserção da espiga principal.

3.3.4.3 Componentes de produção

Foram avaliados nos dias da colheita do milho da Safra Outonal 2012 e da Safra Outonal 2013, o número de plantas m⁻¹, em 5 m de linha, para o cálculo do

estande final de plantas ha^{-1} . Também foram utilizados esses 5 m de linha para avaliar o número de espigas m^{-1} e calcular o número de espigas ha^{-1} .

Nestas mesmas datas foram coletadas 10 espigas ao acaso por parcela, para determinação do comprimento e diâmetro da espiga e a massa de 100 grãos (13% base úmida).

3.3.4.4 Produtividade de grãos

A colheita do milho foi realizada no dia 12/09/2012 para a Safra Outonal 2012, e no dia 16/08/2013 para a Safra Outonal 2013. Para determinação da produtividade foram coletadas todas as espigas da parcela útil (2 linhas centrais, desprezando-se 1 m de cada extremidade), debulhadas em debulhador mecânico e pesadas para conversão em kg ha^{-1} (13% base úmida).

3.3.4.5 Produtividade de matéria seca e análise bromatológica da Urochloa brizantha cv. Xaraés

Para determinação da produção de massa seca da parte aérea da forrageira foram coletadas 3 amostras de 1 m^2 do capim (quadrado de metal de $1,0 \times 1,0 \text{ m}$) por parcela, ceifados a 0,05 m do solo, nos dias da colheita do milho da Safra Outonal 2012 e Safra Outonal 2013, as quais foram secas a 65°C em estufa de circulação forçada de ar até massa constante, moídas e encaminhadas para determinação dos teores de nitrogênio (N) e cálculo de proteína bruta ($\text{PB} = \text{N}(\%) \times 6,25$), conforme metodologia contida em Silva e Queiroz (2002).

3.3.5 Análise estatística dos atributos estudados

Os resultados dos teores de nutrientes foliares, crescimento, componentes da produção, produtividade de grãos de milho para o cultivo outonal e

produtividade de forragem, bem como do seu teor de proteína bruta, foram tabulados e submetidos à análise de variância, posteriormente aplicando-se o teste de Tukey a 5% para comparação de médias quanto ao efeito ou não da inoculação e análise de regressão para doses de N em cobertura. Todos os cálculos foram efetuados utilizando-se o programa de computador SISVAR® (FERREIRA, 1999).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Cultivo de milho na safra primavera/verão (2011/2012 e 2012/2013)

4.1.1 Safra 2011/2012

De modo geral, não houve interações significativas entre o uso ou não da inoculação das sementes e a adubação nitrogenada em cobertura para os teores de nutrientes, atributos morfológicos, componentes da produção e produtividade de grãos de milho (Tabelas 2 e 3).

Na Tabela 2 constam o índice de clorofila foliar (ICF) e os teores médios de macronutrientes foliares do milho no estágio de florescimento. Para o ICF houve efeito da inoculação, a qual apresentou valores superiores ao do milho que não foi inoculado nas sementes por *Azospirillum*. Este resultado corrobora ao afirmado por Bashan et al. (2004) que constataram incremento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a e b, e pigmentos fotoprotetores (xantofilas e carotenóides) em plantas. Também Barassi et al. (2008) relataram a melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila e condutância estomática, com maior produção de biomassa e maior altura de plantas de milho.

Verifica-se que para os teores de nutrientes foliares, a inoculação incrementou as concentrações de N, P e K, e com redução dos teores de Ca. Esse efeito no Ca pode ser atribuído ao efeito de inibição competitiva pelo incremento na absorção de K. Com relação ao aumento dos teores de N, P, K e S esse incremento é pela função principal das bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum*, que são fixadoras de N atmosférico, e que associadas à rizosfera das plantas podem contribuir com a produção de auxinas, substâncias responsáveis pelo estímulo do crescimento, e com este maior crescimento inclusive radicular, melhorar a sua nutrição.

Por efeito das doses de nitrogênio em cobertura, houve ajuste de regressão linear positiva para os teores de K (Tabela 2), demonstrando uma necessidade de aumento de absorção do nutriente para manter o equilíbrio N/K.

Segundo Cantarella et al. (1996), os teores de N foliares ficaram pouco abaixo do nível crítico independentemente da dose N em cobertura, demonstrando que o histórico de SPD e a cultura antecessora de feijão de inverno podem ter suprido as necessidades das plantas. Para os teores dos demais nutrientes, os valores se encontram dentro dos valores adequados, independentemente dos tratamentos.

Analisando-se a Tabela 3 verifica-se que a inoculação das sementes de milho com *A. brasilense* incrementou a altura de plantas (ALTP) e da inserção da espiga principal (AIEP). Estes resultados corroboram aos obtidos por Cavalett et al. (2000) que afirmaram que o efeito da bactéria *A. brasilense* no crescimento das gramíneas, tem sido pesquisado nos últimos anos, não somente quanto à produtividade das culturas, mas também com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam essa produtividade tanto de matéria seca quanto de grãos.

Não houve efeito dos tratamentos sobre o diâmetro basal do colmo, população de plantas, comprimento e diâmetro da espiga. Resultado este pelo histórico em SPD e boa fertilidade do solo na instalação do experimento (Tabela 1). Embora a inoculação das sementes de milho com *A. brasilense* ter reduzido significativamente o número de espigas por hectare, houve concomitante aumento na massa de 100 grãos, o que acarretou em significativo incremento da produtividade de grãos, em relação às sementes não inoculadas.

Por efeito da adubação nitrogenada houve ajuste de equação linear positiva apenas para a produtividade de grãos (Tabela 3). Devendo-se ressaltar que mesmo na parcela sem adubação nitrogenada em cobertura, pela boa fertilidade do solo aliado ao cultivo em SPD irrigado, os valores foram de mais de 7.600 kg ha⁻¹.

Tabela 2- Valores de F e médias de Índice de clorofila foliar (ICF) e teores de nutrientes foliares no florescimento pleno do milho AG 8088 YG, em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2011/2012.

	ICF	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
	g kg ⁻¹										
	mg kg ⁻¹										
Tratamentos	11,7 **	6,30 *	9,26 **	9,9 **	14,0 **	0,66 ns	4,80 *	1,04 ns	0,85 ns	1,0 ns	2,9 ns
Inoculado	61,6 a	26,8 a	3,8 a	21,7 a	2,6 b	1,7	2,6 a	17,0	114,4	60,7	19,6
Não Inoculado	55,1 b	25,0 b	3,3 b	20,8 b	3,0 a	1,8	2,4 b	20,1	110,7	59,1	18,3
Doses	1,08 ns	0,19 ns	0,98 ns	6,4 **	1,62 ns	0,79 ns	1,14 ns	1,34 ns	0,79 ns	2,8 ns	0,69 ns
0	55,9	26,1	3,6	20,9 (1)	2,9	1,8	2,4	15,0	119,1	60,0	18,1
30	57,0	25,5	3,4	20,4	2,9	1,8	2,5	13,8	108,2	64,8	18,4
60	60,0	26,0	3,7	20,6	3,0	1,9	2,6	21,9	112,0	58,9	19,9
90	57,6	25,6	3,3	22,0	2,6	1,7	2,5	21,1	111,1	56,6	19,5
120	61,2	26,3	3,7	22,3	2,7	1,7	2,6	21,1	112,2	59,2	19,0
CV %	10,3	8,7	14	4,5	11,5	16,6	9,5	50,9	11,3	8,4	13,2

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ** e * , respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

(1) Teor de K = 20,4 + 0,014N (R² = 0,624).

Tabela 3- Valores de F e médias de diâmetro basal do colmo (DC), altura da planta (ALTP), altura da inserção da espiga principal (AIEP), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), estande final de plantas por hectare (EFP), número de espigas por hectare (NE), massa em 100 grãos (M100), produtividade de grãos de milho (PG), em função das doses de nitrogênio em kg ha^{-1} , e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2011/2012.

	DC	ALTP	AIEP	CE	DE	EFP	NE	M100	PG
	mm	m	m	cm	mm	ha^{-1}	ha^{-1}	g	kg ha^{-1}
Tratamentos	1,2 ^{ns}	28,1 ^{**}	18,4 ^{**}	2,4 ^{ns}	0,8 ^{ns}	3,1 ^{ns}	6,8 [*]	5,4 [*]	5,1 [*]
Inoculado	23,9	2,39 a	1,27 a	18,8	50,3	48.426	49.676 b	31,5 a	8.768 a
Não inoculado	23,1	2,24 b	1,16 b	18,5	54,3	50.278	52.315 a	30,0 b	8.267 b
Doses	0,95 ^{ns}	1,9 ^{ns}	1,6 ^{ns}	0,7 ^{ns}	1,1 ^{ns}	0,9 ^{ns}	1,4 ^{ns}	0,7 ^{ns}	4,1 ^{**}
0	22,6	2,32	1,25	18,6	49,7	48.495	50.000	30,1	7.628 ⁽¹⁾
30	23,0	2,25	1,15	18,4	49,5	51.273	52.315	30,2	7.993
60	24,2	2,30	1,22	18,9	50,5	49.190	49.190	31,7	7.924
90	23,0	2,35	1,22	18,6	49,9	49.074	51.968	30,9	8.877
120	24,5	2,35	1,23	18,8	62,1	48.727	51.505	31,0	8.912
CV%	10,4	3,8	6,5	3,8	27,7	6,8	6,3	6,8	8,2

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ** e * , respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

⁽¹⁾ PG = 7577 + 11,51N ($R^2 = 0,858$).

4.1.2 Safra 2012/2013

Não houve interação significativa entre doses de N e o uso ou não de inoculante nas sementes para nenhum dos atributos analisados. Os valores de índice de clorofila foliar (ICF), bem como os teores foliares nutricionais do milho (safra primavera/verão) constam da Tabela 4. Verifica-se que houve efeito da inoculação das sementes com *Azospirillum* no aumento dos teores de K, Cu e Zn. Pela inibição competitiva, com o incremento dos teores de K, pode ter ocorrido concomitante redução dos teores de Ca e Mg.

Cabe ressaltar o efeito da inoculação com *Azospirillum*, que segundo a literatura, nos ensaios conduzidos no Brasil, não podem ser correlacionados só com o aumento da absorção de N, mas também com outros nutrientes, fato também relatado em outros países (BASHAN ; HOLGUIN, 1997; STEENHOUDT ; VANDERLEYDEN, 2000; BASHAN et al., 2004), e concordantes com os resultados obtidos na presente pesquisa.

Assim, baseando-se em dados de pesquisa com experimentos de inoculação a campo, Okon e Vanderleyden (1997) concluíram que o gênero *A. brasilense* promove ganhos em produtividade de importantes culturas nas mais variadas condições de clima e solo, contudo, salientam que o ganho com a inoculação vai mais além do que simplesmente auxiliar na fixação biológica do N₂, auxiliando também no aumento da superfície de absorção das raízes da planta e, conseqüentemente, no aumento do volume de substrato do solo explorado, podendo incrementar a absorção de outros nutrientes. Segundo os autores, tal constatação é justificada pelo fato da inoculação modificar a morfologia do sistema radicular, aumentando não apenas o número de radículas mas, também, o diâmetro da raízes laterais e adventícias. Pelo menos parte, ou talvez muitos desses efeitos de *A. brasilense* nas plantas, possam ser atribuídos à produção, pela bactéria, de substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, giberilinas e citocininas, o que incrementaria a absorção de nutrientes como verificado no presente trabalho.

Por efeito das doses de nitrogênio em cobertura, houve ajustes de regressões lineares positivas para os teores de N, P, Ca, Mg, S, Fe, Mn e Zn (Tabela 4). Entretanto, segundo Cantarella et al. (1996), os teores de N foliares ficaram abaixo do nível crítico por efeito da inoculação até a dose de 60 kg ha⁻¹ de N. Para os teores dos demais nutrientes, os valores se encontram dentro dos valores adequados, independentemente dos tratamentos. Com relação aos teores de S, estes ficaram abaixo dos níveis críticos, com exceção para as doses de 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ de N em cobertura.

Para o índice de clorofila foliar, não se observou diferença significativa entre as sementes inoculadas ou não inoculadas com *A. brasilense*, entretanto, assim como ocorreu para os teores foliares de N, houve ajuste linear positivo com o incremento da dose de N em cobertura, pois o nutriente é constituinte da molécula de clorofila. Assim, não coerente aos resultados obtidos por Bashan et al. (2004), que constataram incremento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a e b, e pigmentos fotoprotetivos auxiliares, como violaxantina, zeaxantina, aeroxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno, que resultariam em plantas mais verdes e com menor suscetibilidade ao estresse hídrico.

De modo geral, analisando-se os dois anos agrícolas (Tabelas 2 e 4), na primeira safra com cultura antecessora de feijão de inverno e melhor fertilidade do solo (Tabela 1), os teores nutricionais e índice ICF foram superiores, com menor efeito de N em cobertura, entretanto, com o cultivo de milho de primavera/verão de 2011/2012 e outonal de 2012, houve redução da fertilidade do solo (Tabela 1) e maior efeito do N em cobertura, com ajustes lineares para quase a totalidade dos teores foliares de índice ICF. Costa et al. (2012), em pesquisa sobre a adubação nitrogenada no consórcio de milho com duas espécies de braquiária em sistema plantio direto, constataram que a adubação nitrogenada em cobertura até a dose de 200 kg ha⁻¹ de N aumenta linearmente o ICF, os teores de N, P e S, bem como os componentes da produção e a produtividade de grãos da cultura do milho.

Tabela 4- Valores de F e médias de índice de clorofila foliar (ICF) e teores de nutrientes foliares no florescimento pleno do milho AG 8088 YG, em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012/2013.

	g kg ⁻¹										
	ICF	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
Tratamentos	0,98 ns	0,72 ns	0,12 ns	8,94 **	5,54 **	5,68 **	0,57 ns	4,98 *	0,86 ns	0,09 ns	9,78 **
Inoculado	49,5	23,7	2,8	21,3 a	3,1 b	2,0 b	1,5	11,9 a	142,4	48,4	20,2 a
Não Inoculado	48,8	22,4	2,9	15,0 b	3,5 a	2,2 a	1,6	9,4 b	139,0	48,3	15,6 b
Doses	9,44 **	7,89 **	6,41 **	0,76 ns	6,28 **	5,74 **	5,19 **	1,94 ns	7,82 **	8,07 **	6,95 **
0	32,9 ⁽¹⁾	16,0 ⁽²⁾	2,7 ⁽³⁾	17,5	2,8 ⁽⁴⁾	1,7 ⁽⁵⁾	1,2 ⁽⁶⁾	8,4	105,8 ⁽⁷⁾	36,7 ⁽⁸⁾	16,0 ⁽⁹⁾
30	43,7	20,3	2,6	17,9	3,2	1,9	1,4	10,0	135,4	43,7	17,1
60	51,8	23,8	2,7	18,2	3,4	2,1	1,5	11,0	152,9	49,5	18,0
90	57,3	26,6	2,9	18,5	3,5	2,2	1,7	11,7	158,2	54,2	18,8
120	60,1	28,5	3,3	18,8	3,5	2,4	1,8	12,0	151,3	57,6	19,5
CV %	10,6	12,2	10,0	8,3	8,0	10,1	8,4	28,1	22,9	13,3	14,8

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ** e *, respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

⁽¹⁾ ICF = 28,8 + 3,79N (R² = 0,938); ⁽²⁾ Teor de N = 23,65 + 0,313N (R² = 0,974); ⁽³⁾ Teor de P = 2,36 + 0,016N (R² = 0,732); ⁽⁴⁾ Teor de Ca = 2,81 + 0,0160N (R² = 0,774); ⁽⁵⁾ Teor de Mg = 1,60 + 0,0155N (R² = 0,954); ⁽⁶⁾ Teor de S = 1,11 + 0,0144N (R² = 0,990); ⁽⁷⁾ Teor de Fe = 106,6 + 1,38N (R² = 0,509); ⁽⁸⁾ Teor de Mn = 32,7 + 0,323N (R² = 0,932); ⁽⁹⁾ Teor de Zn = 15,3 + 0,379N (R² = 0,938).

Na Tabela 5 constam os atributos morfológicos da planta, componentes da produção e produtividade do milho na safra de primavera/verão de 2012/2013. Verifica-se que a inoculação das sementes de milho com *A. brasilense* incrementou a altura de plantas. Estes resultados corroboram aos obtidos por Cavalett et al. (2000) que afirmaram que o efeito da bactéria *A. brasilense* no crescimento das gramíneas, tem sido pesquisado nos últimos anos, não somente quanto à produtividade das culturas, mas também com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam essa produtividade tanto de matéria seca quanto de grãos.

Não houve efeito da inoculação sobre os demais atributos avaliados, contudo foi significativo na produtividade de grãos, demonstrando assim, a eficácia da bactéria no aumento de produtividade, tanto pela melhor nutrição da planta (Tabela 4), quanto pelo efeito também verificado por Cavallet et al. (2000), que concluíram que a inoculação promoveu aumento significativo na produtividade de grãos de milho, com média de 17%, semelhante ao avaliado no presente trabalho.

O aumento significativo de 1.000 kg ha^{-1} na produtividade de grãos por efeito da inoculação (Tabela 5) ficou abaixo do constatado por Salomone e Döbereiner (1996), que em estudos da resposta de vários genótipos de milho à inoculação de quatro estirpes de *A. brasilense* isoladas na Argentina e três de raízes de sorgo e milho isoladas no Brasil, verificaram aumento da produtividade, variando em diferentes genótipos, da ordem de 1.700 a 7.300 kg ha^{-1} ; entretanto, os autores confirmam que esses resultados são muito influenciados pelas condições de solo, ambiente e genótipos de planta.

Por efeito da adubação nitrogenada (Tabela 5) houve ajuste de equação quadrática, com ponto de máximo estimado na dose de $97,7 \text{ kg ha}^{-1}$ de N sobre a altura de inserção da espiga principal. Nos demais atributos houve ajustes lineares positivos para a altura de plantas, número de espigas, comprimento e diâmetro médio da espiga, massa de 100 grãos e concomitantemente na produtividade de grãos. Portanto, na safra em questão, o nitrogênio foi primordial na nutrição (Tabela 4), crescimento e produtividade do milho irrigado no cerrado.

Tabela 5- Valores de F e médias de diâmetro basal do colmo (DC), altura da planta (ALTP), altura da inserção da espiga principal (AIEP), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), estande final de plantas por hectare (EFP), número de espigas por hectare (NE), massa em 100 grãos (M100), produtividade de grãos de milho (PG), em função das doses de nitrogênio em kg ha^{-1} , e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012/2013.

	DC	ALTP	AIEP	CE	DE	EFP	NE	M100	PG
	mm	m	m	cm	mm	ha^{-1}	ha^{-1}	g	kg ha^{-1}
Tratamentos	1,84 ^{ns}	13,55 ^{**}	3,51 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,42 ^{ns}	3,74 ^{ns}	1,76 ^{ns}	0,01 ^{ns}	4,58 [*]
Inoculado	22,5	2,25 a	1,17	17,3	48,4	60.889	54.167	29,5	7.252 a
Não inoculado	21,9	2,13 b	1,12	17,1	48,0	57.000	51.278	29,4	6.297 b
Doses	1,97 ^{ns}	10,01 ^{**}	14,58 ^{**}	6,61 ^{**}	5,17 ^{**}	0,14 ^{ns}	8,10 ^{**}	2,87 [*]	20,68 ^{**}
0	21,0	2,00 ⁽¹⁾	0,97 ⁽²⁾	15,8 ⁽³⁾	46,0 ⁽⁴⁾	59,028	40.833 ⁽⁵⁾	27,7 ⁽⁶⁾	3.289 ⁽⁷⁾
30	22,3	2,18	1,12	16,9	47,8	59.722	53.194	28,6	6.078
60	22,2	2,21	1,17	17,3	48,4	57.639	54.444	29,1	7.237
90	22,6	2,26	1,23	17,9	49,4	58.750	57.361	30,0	8.004
120	22,9	2,30	1,22	18,2	49,5	59.583	57.778	31,9	9.266
CV%	6,7	4,7	7,1	5,9	3,7	10,8	13,1	9,2	20,8

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ** e *, respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

(¹) ALTP = $2,05 + 0,0023N$ ($R^2 = 0,852$); (²) AIEP = $0,97 + 0,0053N - 0,000027N^2$ ($R^2 = 0,985$; P.M. = $97,7 \text{ kg ha}^{-1}$ de N); (³) CE = $16,1 + 0,0188N$ ($R^2 = 0,943$); (⁴) DE = $46,5 + 0,0287N$ ($R^2 = 0,899$); (⁵) NE = $45,111 + 126,9N$ ($R^2 = 0,756$); (⁶) M100 = $27,5 + 0,0330N$ ($R^2 = 0,936$); (⁷) PG = $3,999 + 46,27N$ ($R^2 = 0,937$).

4.2 Cultivo de milho em consórcio com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés na safra outonal (2012 e 2013)

4.2.1 Safra Outonal 2012

Não houve interação significativa entre doses de N e o uso ou não de inoculante nas sementes para nenhum dos atributos analisados. Na Tabela 6 constam os teores médios de macronutrientes foliares do milho no estágio de florescimento e após aplicação dos tratamentos. Verifica-se que houve efeito da inoculação das sementes com *Azospirillum* no aumento dos teores de N, K e S, assim como Bashan et al. (2004) afirmam que não só o aumento da absorção de N está correlacionado à inoculação de sementes com *Azospirillum*, mas também com a absorção de outros nutrientes, pelo efeito hormonal no crescimento radicular das plantas e maior exploração de volume de solo.

Por efeito das doses de nitrogênio em cobertura (Tabela 6), houve ajustes de regressão lineares para os teores de N e Mg. Apesar do uso do inoculante ter apresentado diferença significativa quando comparado à não inoculação nas sementes de milho, em todos os tratamentos testados os teores de N nas folhas ficaram abaixo do nível crítico determinado por Cantarella et al. (1996).

Na Tabela 7 constam os valores da produtividade de massa seca e teor de proteína bruta (PB) do capim-Xaraés (*Urochloa brizantha*) em consórcio com o milho na Safra Outonal 2012. O uso da inoculação reduziu a produção de massa seca da parte aérea do capim. O fato de o milho ter tido altura de plantas maiores quando recebeu a inoculação das sementes com *Azospirillum* (Tabela 6), pode ter ocasionado uma maior competição, principalmente por luz e, conseqüentemente, ter diminuído o crescimento vegetativo do capim-Xaraés e acúmulo de massa seca, entretanto, sem modificar seu teor de PB, mesmo em corte no momento da colheita do milho (Tabela 7). Fato este que pode refletir na não utilização de subdoses de herbicidas para limitar o crescimento do capim em consórcio com o

milho, reduzindo o custo e auxiliando na sustentabilidade do ambiente de produção (PARIZ et al., 2011).

Tabela 6- Valores de F e médias de teores de macronutrientes foliares no florescimento pleno do milho AG 8088 YG (cultivo outonal), em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012.

	N	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹					
Tratamentos	23,4 **	2,5 ^{ns}	10,8 **	1,3 ^{ns}	0,01 ^{ns}	10,8 **
Inoculado	15,4 a	3,8	27,3 a	2,1	2,7	1,6 a
Não Inoculado	12,6 b	3,3	24,7 b	2,2	2,7	1,4 b
Doses	5,5 **	2,0 ^{ns}	2,6 ^{ns}	1,2 ^{ns}	6,4 **	2,2 ^{ns}
0	22,6 ⁽¹⁾	4,0	24,8	2,2	2,7 ⁽²⁾	1,5
30	23,6	3,8	25,5	1,9	2,2	1,4
60	23,0	3,5	25,0	2,2	2,6	1,4
90	24,1	3,6	26,5	2,1	2,9	1,5
120	26,5	2,9	28,2	2,3	3,2	1,6
CV %	13	24,5	9,6	18,3	14,7	14,7

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** e *, respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

⁽¹⁾ Teor de N = 22,6 + 0,00024N (R² = 0,864); ⁽²⁾ Teor de Mg = 2,4 + 0,00005N (R² = 0,707).

Houve ajuste de regressão linear positiva para o teor de PB do capim-Xaraés, indicando maior acúmulo de PB de acordo com o aumento das doses de nitrogênio na adubação de cobertura. Nota-se que os teores de PB, mesmo na ausência de adubação nitrogenada (9,3%), mostraram-se razoáveis para alimentação animal, visto que foram superiores aos 7% considerados por Van Soest (1994) como mínimo para manutenção da população de microorganismos do rúmen de bovinos.

Analisando-se a Tabela 8 verifica-se que a inoculação das sementes de milho com *A. brasilense* incrementou a altura de plantas e da inserção da espiga principal. Estes resultados corroboram aos obtidos por Hungria (2011), em que o milho cultivado em consórcio com forrageiras do gênero *Urochloa*, pode ser uma alternativa na melhoria do crescimento da cultura. Estas plantas mais altas refletiram em maior competição intra e interespecífica, como pode ser verificada

na redução do número de espigas de milho e na produção de MS do capim, respectivamente. Por efeito da adubação nitrogenada, ajustaram-se regressões lineares crescentes para comprimento de espigas, diâmetro da espiga e massa de 100 grãos, resultando também em aumento linear da produtividade de grãos de milho em consórcio com o capim-Xaraés.

Tabela 7- Valores de F e médias de produtividade de massa seca e teor de proteína bruta (PB) do capim-Xaraés (*Urochloa brizantha*) em consórcio com o milho AG 8088 YG (cultivo outonal), em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes do milho com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012.

	MS	PB
	kg ha ⁻¹	%
Tratamentos	20,41 **	0,43 ^{ns}
Inoculado	3.280 b	14,1
Não inoculado	5.080 a	14,4
Doses	0,42 ^{ns}	59,2 **
0	4.325	9,3 ⁽¹⁾
30	4.050	13,2
60	4.275	15,5
90	3.750	16,6
120	4.500	17,0
CV%	30,1	8,1

*Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** e *, respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

⁽¹⁾ PB = 11,96 + 0,0042N (R² = 0,643).

Tabela 8- Valores de F e médias de diâmetro basal do colmo (DC), altura de planta (ALTP), altura da inserção da espiga principal (AIEP), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), estande final de plantas por hectare (EFP), número de espigas por hectare (NE), massa em 100 grãos (M100) e produtividade de grãos de milho outonal (PG), em função das doses de nitrogênio em kg ha^{-1} , e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2012.

	DC	ALTP	AIEP	CE	DE	EFP	NE	M100	PG
	mm	m	m	cm	mm	ha^{-1}	ha^{-1}	g	kg ha^{-1}
Tratamento	0,36 ^{ns}	6,12 ^{**}	5,30 ^{**}	0,93 ^{ns}	0,17 ^{ns}	1,32 ^{ns}	5,70 ^{**}	1,07 ^{ns}	0,86 ^{ns}
Inoculado	23,9	2,39 a	1,27 a	15,1	43,9	58.111	59.611 b	26,72	5.373
Não inoculado	23,1	2,24 b	1,16 b	14,9	43,7	60.333	62.778 a	25,84	5.462
Doses	0,45 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,08 ^{ns}	7,56 ^{**}	5,31 ^{**}	0,73 ^{ns}	1,68 ^{ns}	5,52 ^{**}	9,80 ^{**}
0	22,7	2,29	1,23	12,9 ⁽¹⁾	41,8 ⁽²⁾	58.905	60.615	23,7 ⁽³⁾	3.648 ⁽⁴⁾
30	23,1	2,29	1,20	14,6	43,3	59.798	60.845	25,0	4.989
60	23,5	2,30	1,19	15,6	44,3	59.956	61.135	26,3	5.874
90	23,9	2,32	1,21	16,0	44,7	59.381	61.484	27,6	6.303
120	24,2	2,36	1,24	15,8	44,6	58.071	61.892	28,9	6.276
CV%	10,4	3,1	6	5,4	2,4	6,3	5,9	6,7	20,1

*Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ** e *, respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

⁽¹⁾ CE = 12,87 + 0,0312N ($R^2 = 0,771$); ⁽²⁾ DE = 41,65 + 0,0308N ($R^2 = 0,81$); ⁽³⁾ M100 = 22,39 + 0,0430N ($R^2 = 0,994$); ⁽⁴⁾ PG = 3447 + 35,7N ($R^2 = 0,855$).

4.2.2 Safra Outonal 2013

Não houve interação significativa entre doses de N e o uso ou não de inoculante nas sementes para nenhum dos atributos analisados. Na Tabela 9 constam os teores médios de macronutrientes foliares do milho no estágio de florescimento e após aplicação dos tratamentos. Verifica-se que houve efeito da inoculação das sementes com *Azospirillum* no aumento dos teores de N, Ca e Mg, corroborando com os relatos de Bashan e Holguin (1997); Steenhoudt e Vanderleyden (2000) de que o efeito da inoculação com *Azospirillum* não pode ser correlacionado só com o aumento da absorção de N, mas também com outros nutrientes.

Por efeito das doses de nitrogênio em cobertura (Tabela 9), houve ajustes de regressão lineares positivas para os teores de N e P foliares. Segundo Cantarella et al. (1996), os teores de N foliares ficaram dentro do nível crítico por efeito da inoculação, com exceção da testemunha sem N em cobertura. Para os teores dos demais nutrientes, os valores se encontram dentro dos níveis adequados independentemente dos tratamentos. Com relação aos teores de S, estes ficaram abaixo do nível crítico, como no cultivo de primavera-verão da Safra 2012/2013 (Tabela 4). Cabe destacar, que mesmo em condições de SPD, pela utilização de ureia e nitrato de amônio como fonte de N, talvez as necessidades em S não foram totalmente atendidas à cultura, entretanto, com o uso de fontes de N com S, poderiam mascarar os efeitos do N, objeto de estudo da presente pesquisa.

Na Tabela 9 observa-se que ocorreu diferença significativa para os teores foliares de N entre as plantas com sementes inoculadas em comparação às não inoculadas. Houve ajuste linear positivo com o incremento da dose de N em cobertura, pois segundo Taiz e Zeiger (2006), Reis et al. (2006) e Epstein e Bloom (2006), isso acontece pois o nitrogênio absorvido pela planta está fortemente ligado ao teor de clorofila, pois o nutriente é constituinte desta molécula.

Bashan et al. (2004) diferentemente do obtido no presente trabalho, constataram incremento em vários pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a,

b, e pigmentos fotoprotetivos auxiliares, como violaxantina, zeaxantina, aeroxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno, que resultariam em plantas mais verdes e com menor suscetibilidade ao estresse hídrico. Contudo, segundo Roesch et al.(2006), resultados da interação bactérias diazotróficas e milho em termos de potencial agrônomo, fixação de nitrogênio ou promoção do crescimento, depende de muitos fatores bióticos e ambientais, tais como genótipo da planta, comunidade microbiológica do solo e disponibilidade de nitrogênio.

Tabela 9- Valores de F e médias dos teores de macronutrientes foliares no florescimento pleno do milho AG 8088 YG (cultivo outonal), em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2013.

	N	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹					
Tratamentos	4,57 *	1,86 ^{ns}	0,30 ^{ns}	16,19 **	8,15 **	2,36 ^{ns}
Inoculado	27,7 a	4,0	23,1	3,0 a	2,3 a	0,82
Não Inoculado	26,5 b	3,9	22,7	2,7 b	2,1 b	0,74
Doses	14,41 **	4,49 **	0,86 ^{ns}	2,69 ^{ns}	0,86 ^{ns}	1,26 ^{ns}
0	23,4 ⁽¹⁾	3,7 ⁽²⁾	22,3	2,6	2,1	0,69
30	26,8	4,0	21,8	2,8	2,2	0,76
60	27,9	3,9	22,5	3,1	2,3	0,80
90	28,4	4,1	24,3	2,8	2,3	0,83
120	29,1	4,1	23,8	2,9	2,2	0,83
CV %	6,2	4,4	10,1	10	10,4	19,7

*Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** e *, respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

⁽¹⁾ Teor de N = 25,53 + 0,0293N (R² = 0,601); ⁽²⁾ Teor de P = 3,89 + 0,00147N (R² = 0,502).

Na Tabela 10 constam os valores da produtividade de massa seca e teor de proteína bruta (PB) do capim-Xaraés (*Urochloa brizantha*) em consórcio com o milho (safra outonal). Verifica-se que, novamente como na safra de 2012, houve efeito da inoculação reduzindo a produção de massa seca da parte aérea do capim. Tal resultado pode ter ocorrido devido à competição no consórcio com o milho, pois, por efeito da inoculação, o milho apresentou plantas com maior crescimento vegetativo em diâmetro do colmo e altura (Tabela 11), o que refletiu em menor crescimento do capim-Xaraés no consórcio, uma vez que o

sombreamento proporcionado no consórcio com a cultura do milho pode fazer com que as forrageiras diminuam sua taxa de acúmulo de massa seca.

Pelo efeito de competição do milho com o capim-Xaraés, os resultados da inoculação nas sementes de milho tiveram reflexos negativos sobre o capim, embora em estudos desenvolvidos por Itzigsohn et al. (2000) mostrarem que a inoculação de *Azospirillum* em pastagens tem grande potencial para tornar-se uma técnica aplicável a estes sistemas em condições de déficit hídrico e/ou baixa fertilidade. Boddey e Victoria (1986) também afirmaram que determinados genótipos de *Urochloa* não apresentam reduções significativas em sua produtividade com perdas de N que, podem estar sendo compensadas pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico (FBN), sendo responsável pela introdução de 30 a 40 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de N no sistema solo-planta.

Tabela 10- Valores de F e médias de produtividade de massa seca e teor de proteína bruta (PB) do capim-Xaraés (*Urochloa brizantha*) em consórcio com o milho AG 8088 YG (cultivo outonal), em função das doses de N em kg ha⁻¹, e inoculação ou não das sementes do milho com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2013.

	MS	PB
	kg ha ⁻¹	%
Tratamentos	20,41 **	0,43 ^{ns}
Inoculado	2.755 b	12,0
Não inoculado	4.267 a	12,2
Doses	0,42 ^{ns}	59,23 **
0	3.633	7,9 ⁽¹⁾
30	3.402	11,3
60	3.591	13,1
90	3.150	13,8
120	3.780	14,4
CV%	30,1	8,1

*Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

** e *, respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

¹ PB = 10,17 + 0,0358N (R² = 0,643).

Verifica-se também na Tabela 10, que houve ajuste de regressão linear positiva para o teor de PB do capim-Xaraés, mesmo em idade avançada

(semeadura conjunta ao milho), o que pode melhorar a digestibilidade e o provável aproveitamento nutricional pelos animais, caso o mesmo fosse utilizado na implantação da pastagem em sucessão.

Cecato et al. (2004) verificaram que a aplicação de doses de N (até 600 kg ha⁻¹ ano⁻¹) proporcionou incremento nos teores de PB na forragem, sendo os maiores valores encontrados no período de verão, independente da menor relação lâmina foliar/colmo. Nota-se que os teores de PB, mesmo na ausência de adubação nitrogenada (7,9%), mostraram-se razoáveis para alimentação animal, visto que foram superiores aos 7% considerados por Van Soest (1994) como mínimo para manutenção da população de microorganismos do rúmen de bovinos.

Analisando-se a Tabela 11, verifica-se que, embora não significativo para a produtividade de grãos, houve efeito da inoculação das sementes com *Azospirillum* no aumento do DC, ALTP, DE, EFP e NE, corroborando com os estudos de Cavallet et al. (2000), que em experimento realizado a campo sobre o sistema plantio direto, testando a inoculação de *A. brasilense* em sementes de milho sobre atributos agronômicos da cultura, concluíram que a inoculação só não promoveu aumento significativo da produtividade de grãos de milho. Contudo, os autores não verificaram efeito da inoculação sobre a altura de plantas, diferente ao presente trabalho. Resultados estes normais, pois, segundo Roesch et al. (2006), a interação bactérias diazotróficas e milho em termos de potencial agronômico, fixação de nitrogênio ou promoção do crescimento e produtividade, depende de muitos fatores bióticos e ambientais, tais como genótipo da planta, comunidade microbiológica do solo e disponibilidade de nitrogênio.

Cabe destacar que pelo maior crescimento vegetativo, com maior população de plantas e número de espigas de milho no tratamento com inoculação, houve redução na massa de 100 grãos (Tabela 11), o que pode explicar em parte o não efeito significativo na produtividade de grãos.

Em relação às doses de N em cobertura no milho, houve ajustes significativos para EFP e NE, entretanto sem ajuste para produtividade de grãos. Existem muitos relatos de respostas positivas da inoculação de bactérias diazotróficas associadas à cultura de cereais (DALLA SANTA et al., 2004;

ROESCH et al., 2005; SALA et al., 2008), havendo, entretanto, outros relatos em que não houve efeito da inoculação (OGÜT et al., 2005). Em trabalho de Mertens e Hess (1984), que utilizaram uma estirpe de *Azospirillum* em três anos de experimento de campo, obtiveram aumento na produtividade de grãos, que variou de 8 a 32 %, variação ocorrida entre os anos e dentro do mesmo ano de cultivo, semelhante ao constatado no presente trabalho quanto ao efeito na safra de primavera/verão e não efeito sobre no cultivo outonal de 2013. Cabe destacar que, segundo Hungria (2011), outro fator a ser considerado é que certas gramíneas, como as braquiárias, em cultivos sucessivos podem ser hospedeiras de bactérias diazotróficas nativas do solo, o que necessita, portanto de mais estudos de cultivos consorciados de milho com forrageiras tropicais.

Tabela 11- Valores de F e médias de diâmetro basal do colmo (DC), altura de planta (ALTP), altura da inserção da espiga principal (AIEP), comprimento de espiga (CE), diâmetro de espiga (DE), estande final de plantas por hectare (EFP), número de espigas por hectare (NE), massa em 100 grãos (M100), produtividade de grãos de milho outonal (PG), em função das doses de nitrogênio em kg ha^{-1} , e inoculação ou não das sementes com *Azospirillum brasilense*. Selvíria – MS, 2013.

	DC	ALTP	AIEP	CE	DE	EFP	NE	M100	PG
	mm	m	cm	mm	mm	ha ⁻¹	ha ⁻¹	g	kg ha ⁻¹
Tratamentos	8,77 **	10,39 **	1,56 ns	0,15 ns	5,55 *	8,80 **	6,38 *	5,67 *	2,84 ns
Inoculado	17,8 a	2,26 a	1,33	11,7	39 a	63.333 a	54.278 a	17,6 b	5.267
Não inoculado	16,1 b	2,17 b	1,29	11,6	37 b	59.833 b	49.889 b	21,8 a	4.639
Doses	0,69 ns	1,00 ns	0,13 ns	2,95 ns	1,82 ns	3,70*	3,23 *	1,07 ns	0,98 ns
0	16,2	2,20	1,30	10,6	37	59.722 (1)	47.639 (2)	22,8	4.767
30	17,1	2,21	1,31	11,3	37	58.056	49.028	21,6	4.509
60	17,5	2,20	1,32	12,1	38	63.056	55.139	20,3	5.388
90	17,3	2,27	1,30	12,3	38	63.472	54.722	17,5	4.854
120	16,5	2,19	1,33	11,8	38	63.611	53.889	19,2	5.223
CV%	10,7	3,9	7,8	8,3	5	6,1	10,6	28,2	23,5

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ** e *, respectivamente significativos a 1 e 5% pelo teste F, ns – não significativo.

(1) EFP = 59797 + 0,3308N ($R^2 = 0,599$); (2) NE = 49952 + 0,3947N ($R^2 = 0,451$).

5 CONCLUSÃO

A inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, nos cultivos de primavera-verão, incrementou a altura das plantas e a produtividade de grãos.

A adubação em cobertura, com a dose de N de até 120 kg ha⁻¹, incrementou linearmente os teores nutricionais foliares e a produtividade de grãos do milho irrigado cultivado na primavera/verão no Cerrado.

A inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, em cultivo consorciado com capim-Xaraés na época outonal melhorou a nutrição, bem como com aumento da altura das plantas e dos componentes da produção do milho, entretanto, sem efeito na produtividade de grãos.

Plantas de milho advindas de sementes inoculadas com *Azospirillum brasilense*, pelo seu maior crescimento vegetativo, proporcionam menor produção de matéria seca do capim-Xaraés semeado em consórcio com o milho outonal.

A adubação em cobertura, com a dose de N de até 120 kg ha⁻¹, incrementou linearmente os teores de proteína bruta do capim-Xaraés em consórcio com o milho outonal.

REFERÊNCIAS

ANDREUCCI, M. P. **Perdas nitrogenadas e recuperação aparente de nitrogênio em fontes de adubação de capim elefante**. 2007. 204 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

ANDRIOLI, I.; BEUTLER, A. N.; CENTURION, J. F.; ANDRIOLI, F. F.; COUTINHO, E. L. M.; Produção de milho em plantio direto com adubação nitrogenada e cobertura do solo na pré-safra. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 1691-1698, 2008.

BARASSI, C. A.; SUELDO, R. J.; CREUS, C. M.; CARROZZI, L. E.; CASANOVAS, W. M.; PEREYRA, M. A. Potencialidad de *Azospirillum* en optimizer el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). ***Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 49-59.

BATISTA, K.; DUARTE, A. P.; CECCON, G.; MARIA, I. C. ; CANTARELLA, H. Acúmulo de matéria seca e de nutrientes em forrageiras consorciadas com milho safrinha em função da adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, n. 10, p. 1154-1160, 2011.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* – plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, Birmingham, v. 43, p. 103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Birmingham, v. 50, p. 521-577, 2004.

BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. **Fertilizer Research**, Dordrecht, v. 42, p. 241-250, 1995.

BODDEY, R. M.; VICTORIA, R. L. Estimation of biological nitrogen fixation associated with *Brachiaria* and *Paspalum* grasses using ¹⁵N labeled organic matter and fertilizer. **Plant and Soil**, The Hague, v. 90, p. 256-292, 1986.

BORGHI, E.; COSTA, N. V.; CRUSCIOL, C. A. C.; MATEUS, G. P. Influência da distribuição espacial do milho e da *Brachiaria brizantha* consorciados sobre a

- população de plantas daninhas em sistema plantio direto na palha. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 559-568, 2008.
- BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A₁, A₃, and iso-A₃ in cultures of *A. lipoferum*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 90, p. 45-47, 1989.
- BÜLL, L. T. Nutrição mineral do milho. In: BULL, L.T.; CANTARELLA, H. (Ed.). **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 63-145.
- CANTARELLA, H. **Adubação do milho “safrinha”**. In: SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO SAFRINHA, 5., 1999, Barretos. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo, 1999. p. 15-24.
- CANTARELLA, H. Calagem e adubação do milho. In: BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. (Eds). **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p.147-198.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.
- CANTARELLA, H.; RAIJ, B. van; CAMARGO, C. E. O. 13 cereais. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. O.; FURLANI, A. M. C. (Ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo & Fundação, 1996. p. 43-71. (Boletim técnico, 100)
- CARDOSO, I. C. M. **Ocorrência e diversidade de bactérias endofíticas do gênero *Azospirillum* na cultura do arroz irrigado em Santa Catarina**. 2008. 75 f. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo) - Universidade Estadual de Santa Catarina, Lages, 2008.
- CASSÁN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). ***Azospirillum* sp.**: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 61-86.
- CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). ***Azospirillum* sp.**: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. 268 p.
- CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. 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**, Campina Grande, v. 4, p. 129-132, 2000.

CECATO, U.; PEREIRA, L. A. F.; JOBIM, C. C.; MARTINS, E. N.; BRANCO, A. F.; GALBEIRO, S.; MACHADO, A. O. Influência das adubações nitrogenada e fosfatada sobre a composição químico-bromatológica do capim Marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf cv. Marandu). **Acta Scientiarum: animal sciences**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 409-416, 2004.

CHIODEROLI, C. A.; DE MELLO, L. M. M.; GRIGOLLI, P. J.; SILVA, J. O. R.; CESARIN, A. L. Consorciação de braquiárias com milho outonal em plantio direto sob pivô central. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 30, n. 6, p.1101-1109, 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 1 - Safra 2013/14, n. 9 - Nono Levantamento, jun. 2014. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 29 jun. 2014.

CORREA, O. S.; ROMERO, A. M.; SORIA, M. A.; DE ESTRADA, M. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). ***Azospirillum sp.***: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 87-95.

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

CRUZ, J. C.; MONTEIRO, J. A.; SANTANA, D. P.; GARCIA, J. C.; BAHIA, F. G. F. T. C.; SANS, L. M. A.; PEREIRA FILHO, I. A. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. 2. ed. Brasília: Embrapa-SPI, 1996. 204 p.

CRUZ, J. C.; PEREIRA, F. T. F. P.; PEREIRA FILHO, I. A.; COELHO, A. M. **Resposta de cultivares de milho à adubação nitrogenada em cobertura**. Sete Lagoas: Embrapa, 2005. 65 p. (Comunicado técnico, 116)

DALLA SANTA, O. R.; HERNÁNDEZ, R. F.; ALVAREZ, G. L. M.; RONZELLI JUNIOR, P.; SOCCOL, C. R. *Azospirillum sp.* inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, p. 843-850, 2004.

DEMATTÊ, J. L. I. **Levantamento detalhado dos solos de “Campus experimental de Ilha Solteira”**. Piracicaba: Departamento de Solos, Geologia e Fertilidade/ESALQ/USP, 1980. 44 p.

DÍAZ-ZORITA, M.; FERNANDEZ CANIGIA, M. V. Análisis de la producción de cereales inoculados con *Azospirillum brasilense* en la República Argentina. In: CASSÁN, F. D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.). ***Azospirillum spp.***: cell

physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 155-166.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não leguminosas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI; Itaguaí: RJ, Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia, 1995. 60 p.

DÖBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In: NEWTON W.E.; NYMAN, C.T. (Ed.) INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION, **Proceedings of the...** Pullman, USA: Washington State University Press, 1976. V. 2, p. 518-538.

DÖBEREINER, J.; MARRIEL, I.; NERY, M. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. **Canadian Journal of Microbiology**, Birmingham, v. 22, p.1464–1473, 1976.

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. **Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants**. Madison: Science Tech, 1987. p. 1-155. (Brock/Springer series in contemporary bioscience).

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A. L. E. **Equações gerais para manejo da cultura do milho**: tecnologia da produção de milho. Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. p.171-174.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - Embrapa. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de pesquisa de Solos, 2006. 306 p.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas**: princípios e perspectivas. 2. ed. Londrina: Ed. Planta, 2006. 403 p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360 p.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L.; TRIVELIN, P. C. O. Parcelamento da adubação nitrogenada na cultura do milho e utilização do N residual pela sucessão aveia preta - milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1138-1141, 2008.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: Sistema de análise de variância. Versão 4.2. Lavras: UFLA/DEX, 1999.

FRANÇA, G. E.; COELHO, A. M.; BAHIA FILHO, A. F. C. Parcelamento da adubação nitrogenada em cobertura na cultura do milho irrigado. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 10., 1994, Goiânia, GO. **Resumos...** Goiânia: ABMS/EMGOPA/CNPMS-EMBRAPA/UFG/EMATER-GO, 1994. p.101.

GROSS, M. R.; VON PINHO, R. G.; BRITO, A. H. Adubação nitrogenada, densidade de semeadura e espaçamento entre fileiras na cultura do milho em sistema plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 3, p. 387-393, 2006.

HERINGER, I.; MOOJEN, E. L. Potencial produtivo, alterações da estrutura e qualidade da pastagem de milho submetida a diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 875-882, 2002. Suplemento.

HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R.A.; BONATTO, A.C.; RIGO, L.U.; STEFFENS, M.B.R.; CRUZ, L.M.; CHUBATSU, L.S.; SOUZA, E.M.; PEDROSA F.O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum spp.***: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 19 p. (Documentos, 325).

ITZIGSOHN, R.; BURDMAN, S.; OKON, Y.; ZAADY, E.; YONATAN, R.; PEREVOLOTSKY, A. Plant-growth promotion in natural pastures by inoculation with *Azospirillum brasilense* under suboptimal growth conditions. **Arid Soil Research Rehabilitation**, Philadelphia, v.13, p. 151-158, 2000.

KHATOUNIAN, C. A. O manejo da fertilidade em sistemas de produção. In: CASTRO FILHO, C.; MUZILLI, O. (Coord.). **Uso e manejo dos solos de baixa aptidão agrícola**. Londrina: Iapar, 1999. p.179-221. (Circular, 108).

KLUTHCOUSKI, J.; COBUCCI, T.; AIDAR, H.; YOKOYAMA, L. P.; OLIVEIRA, I. P.; COSTA, J. L. S.; VILELA, L.; BARCELLOS, A. O; MAGNABOSCO, C. U. **Sistema Santa Fé**: tecnologia Embrapa: integração lavoura-pecuária pelo consórcio de culturas anuais com forrageiras, em áreas de lavoura, nos sistemas direto e convencional. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2000. 28 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 38).

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, 1997. 319 p.

MENEZES, M. J. T. **Eficiência agrônômica de fontes nitrogenadas e de associações de fertilizantes no processo de diferimento de *Brachiaria brizanta* cv. Marandu**. 2004. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

MERTENS, T.; HESS, D. Yield increases in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) inoculated with *Azospirillum lipoferum* under greenhouse and field conditions of a temperate region. **Plant and Soil**, The Hague, v. 82, p. 87-99, 1984.

NEUMANN, M.; SNDINI, I. E.; LUSTOSA, S. B. C.; OST, P. R.; ROMANO, M. A.; FALBO, M. K.; PANSERA, E. R. Rendimentos e componentes de produção da planta de milho (*Zea mays* L.) para silagem, em função de níveis de adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, p. 418-427, 2005.

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

OHLAND, R. A. A.; SOUZA, L. C. F.; 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**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005.

OKON, Y. *Azospirillum* as a potencial inoculant for agriculture. **Trends Biotechnology**, Amsterdam, v. 3, p. 223-228, 1985.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 26, p.1591-1601, 1994.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v. 63, n. 7, p. 366-370, 1997.

PARIS, W.; CECATO, U.; BRANCO, A. F.; BARBERO, L. M.; GALBEIRO, S. Produção de novilhas de corte em pastagem de Coastcross-1 consorciada com *Arachis pintoi* com e sem adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 1, p. 122- 129, 2009.

PARIZ, C. M.; ANDREOTTI, M.; AZENHA, M. V.; BERGAMASCHINE, A. F.; MELLO, L. M. M.; LIMA, R. C. Produtividade de grãos de milho e massa seca de braquiárias em consórcio no sistema de integração lavoura-pecuária. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, p. 875-882, 2011.

PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 75, p. 1143-1150, 2007.

PRADO, R. M.; FERNANDES, F. M.; ROQUE, C. G. Resposta da cultura do milho a modos de aplicação e doses de fósforo, em adubação de manutenção. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, p. 83-90, 2001.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285 p.

REIS JÚNIOR, F. B.; DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; MACHADO, A. T. **Seleção de genótipos de milho e arroz mais eficientes quanto ao ganho de N através de fixação biológica de N₂**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1998. 23 p. (Documento, n. 73).

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

REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Review in Plant Sciences**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 227-247, 2000.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L de M. de; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 153-174.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 91, p. 552-555, 2004.

ROESCH, L. F.; CAMARGO, F. O.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. S. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 1201-1204, 2005.

ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L. P. M.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. L. S.; 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.

SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, J. G.; SILVEIRA, A. P. D. Novas bactérias diazotróficas endofíticas na cultura do trigo em interação com a adubação nitrogenada, no campo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 1099-1106, 2008.

SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biologic Fertilizer Soils**, Oxford, v. 21, p. 193-196, 1996.

SCALCO, M. S.; FARIA, M. A.; GERMANI, R.; MORAIS, A. R. Produtividade e qualidade industrial do trigo sob diferentes níveis de irrigação e adubação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 400-410, 2003.

- SEVERINO, F. J.; CARVALHO, S. J. P.; CHRISTOFOLETI, P. J. Interferências mútuas entre a cultura do milho, espécies forrageiras e plantas daninhas em um sistema de consórcio. I- Implicações sobre a cultura do milho (*Zea mays*). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 589-596, 2005.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: Ed. da UFV, 2002. 235 p.
- SILVEIRA, P. M. ; STONE, L. F.; JÚNIOR, J. A.; SILVA, J. G. Efeitos do manejo do solo sob plantio direto e de culturas na densidade e porosidade de um Latossolo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 3, p. 53-59, 2008.
- STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 24, p. 487-506, 2000.
- STRZELCZYK, E.; KAMPER, M.; LI, C. Cytocinin-like-substances and ethylene production by *Azospirillum* in media with different carbon sources. **Microbiological Research**, Jena, v.149, p.55-60, 1994.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719 p.
- TARRANT, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, Birmingham, v. 24, p. 967-980, 1978.
- TEIXEIRA, C. M.; CARVALHO, G. J.; ANDRADE, M. J. B.; SILVA, C. A.; BOTREL, E. P. Nitrogênio e palhadas de milheto solteiro e consorciado com feijão-de-porco, no plantio direto do feijoeiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Resumos...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2008. p. 1511-1514.
- TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v. 37, p. 1016-1024, 1979.
- TSUMANUMA, G. M. **Desempenho do milho consorciado com diferentes espécies de brachiarias, em Piracicaba, SP**. 2004. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- VAN SOEST, P. J. **Ecologia nutricional de ruminantes**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994.

VITTI, G. C.; MALAVOLTA, E.; COLTINHO, E. L. M. Uso eficiente de fertilizantes nitrogenados e portadores de enxofre. In. SIMPÓSIO SOBRE FERTILIZANTES NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 1984, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa-DEP, 1984. p. 205-253. (EMBRAPA-DEP. Documentos, 14)