

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

JEFERSON LUIZ BOSQUETTI

**APLICAÇÃO FOLIAR DE *AZOSPIRILLUM BRASILIENSE* EM MILHO
ASSOCIADO COM NÍVEIS DE NITROGÊNIO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2016

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

JEFERSON LUIZ BOSQUETTI

**APLICAÇÃO FOLIAR DE *AZOSPIRILLUM BRASILIENSE* EM MILHO
ASSOCIADO COM NÍVEIS DE NITROGÊNIO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2016

JEFERSON LUIZ BOSQUETTI

**APLICAÇÃO FOLIAR DE *AZOSPIRILLUM BRASILIENSE* EM MILHO
ASSOCIADO COM NÍVEIS DE NITROGÊNIO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Luís César Cassol.

PATO BRANCO

2016

Bosquetti, Jeferson Luiz
Aplicação foliar de *Azospirillum brasiliense* em milho associado com níveis de nitrogênio / Jeferson Luiz Bosquetti.
Pato Branco. UTFPR, 2016
41 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Luís César Cassol.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Agronomia. Pato Branco, 2015.

Bibliografia: f. 34 – 38

1. Agronomia. 2. Nitrogênio. 3. Fixação biológica de nitrogênio. 4. Produtividade.. I. Cassol, Luís César. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Agronomia. III. Aplicação foliar de *Azospirillum brasiliense* em milho associado com níveis de nitrogênio .

CDD: 630



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias
Curso de Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO
Trabalho de Conclusão de Curso - TCC

APLICAÇÃO FOLIAR DE AZOSPIRILLUM BRASILIENSE EM MILHO
ASSOCIADO COM NÍVEIS DE NITROGÊNIO

por

JEFERSON LUIZ BOSQUETTI

Monografia apresentada às 9 horas 30 min. do dia 16 de agosto de 2016 como requisito parcial para obtenção do título de ENGENHEIRO AGRÔNOMO, Curso de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo-assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Idalmir dos Santos XXX
UTFPR

Prof^a. Dra. Tangriani Simioni Assmann
UTFPR

Prof. Dr. Luís César Cassol
UTFPR
Orientador

A "Ata de Defesa" e o decorrente "Termo de Aprovação" encontram-se assinados e devidamente depositados na Coordenação do Curso de Agronomia da UTFPR Câmpus Pato Branco-PR, conforme Norma aprovada pelo Colegiado de Curso.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, por iluminar meu caminho e dar forças para seguir sempre em frente, pela minha existência, porque nada é possível se não for de Sua vontade.

A minha família que, nos momentos de nossas ausências dedicadas ao estudo, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

Agradeço a minha namorada Cintia Carla Bernardi por sempre estar ao meu lado e por me ajudar com a colheita do experimento e também nas coletas para análise foliar.

Ao orientador, Prof. Dr. Luís César Cassol, por toda a disponibilidade e orientação prestada, pelo apoio e compreensão que sempre manifestou.

À Prof. Dr. Betânia Brum pelo apoio prestado e por ajudar com a análise dos dados.

Agradeço a minha colega Sarha Kobata por ajudar no momento da instalação do experimento.

Agradeço a minha colega de turma Izabela Gomes por me ajudar com o resumo e por suas observações muito importantes ao longo do desenvolvimento do trabalho.

Aos meus amigos e colegas que, por gestos e atitudes, diariamente ressaltam o significado do verdadeiro sentimento de amizade. Cinco anos talvez seja pouco tempo para escrever uma história, mas muito para preencher mais um capítulo importante que compõe nossas vidas.

Agradeço aos meus amigos que me incentivaram e mostraram apoio nos momentos difíceis, especialmente Rodrigo Zanella, Rafael Carlos Baldin, Kamila Katieli Kovali, Sarha Kobata, Lucas Feversani, Braulio Fabris, Vinicius Bez Batti, Erick Reis e inúmeros outros que não foram citados.

Agradeço também a Lavoura S/A por ceder espaço para que eu conseguisse realizar a pesagem e medição da umidade das parcelas de milho.

A todos os professores do Curso de Agronomia, dedicados à arte de ensinar, pela contribuição para o nosso progresso acadêmico.

A todos que diretamente ou indiretamente ajudaram na realização e conclusão deste estudo o meu MUITO OBRIGADO.

"Uma vez que você tenha experimentado voar, você andará pela terra com seus olhos voltados para céu, pois lá você esteve e para lá você desejará voltar".

Leonardo da Vinci

RESUMO

BOSQUETTI, Jeferson Luiz. Aplicação foliar de *Azospirillum brasiliense* em milho associado com níveis de nitrogênio. 41 f. TCC (Curso de Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2016.

O milho tem grande importância social e econômica para o Brasil e é influenciado por problemas de estresse ambiental, com destaque para a baixa fertilidade dos solos, especialmente em relação a deficiência de nitrogênio. Para se alcançar o rendimento máximo no cultivo de cereais, como o milho, é necessária a aplicação de altas doses de fertilizantes, principalmente adubos nitrogenados. Porém, nos últimos anos foi possível a descoberta de novas fontes como as bactérias diazotróficas microaeróbias, do gênero *Azospirillum*, as quais promovem a fixação de nitrogênio atmosférico, quando em vida livre, e, quando associadas à rizosfera das plantas podem contribuir com o processo de fixação e com isso reduzir as doses de nitrogênio. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o desempenho do milho em função da aplicação de diferentes doses de nitrogênio combinado à doses de inoculante foliar, visando altas produtividades. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com quatro repetições e os tratamentos foram dispostos em fatorial 3 x 4, correspondendo a três doses de inoculante comercial, na concentração de 0, 100 e 200 ml ha⁻¹, e quatro doses de nitrogênio, 0, 60, 120 e 180 kg de N ha⁻¹, aplicadas no estágio V4-V8, usando a ureia como fonte. O cultivar utilizado foi o híbrido DKB 290 VT PRO 3[®]. Não foi verificada interação entre doses de inoculante x doses de nitrogênio para nenhuma das variáveis respostas. O inoculante afetou, de forma quadrática, o teor de nitrogênio na espiga. Por sua vez, as doses crescentes de nitrogênio aumentaram linearmente o teor de nitrogênio na folha e o rendimento de grãos de milho.

Palavras-chave: Nitrogênio. Fixação biológica de nitrogênio. Produtividade.

ABSTRACT

BOSQUETTI, Jeferson Luiz. *Azospirillum brasiliense* foliar application in corn associated to different rates of nitrogen. 41 f. TCC (Course of Agronomy) - Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2015.

Corn has major social and economic importance to Brazil and is influenced by environmental stress problems, among which mainly highlights the low fertility of the soil, that, mostly, show deficiency of N. To achieve maximum yield in cereal crops, such as corn, it is necessary the application of high doses of fertilizers, especially nitrogen. However, in recent years, it was possible the finding new sources such as diazotrophic microaerobic bacteria, the *Azospirillum* genus, that promote the fixation of atmospheric nitrogen, when in free living, and, when associated with the rhizosphere of plants they can contribute to the process of fixing and thus reduce nitrogen rates required. This study was carried out to evaluate the performance of corn due to the application of different rates of nitrogen combined to doses of leaf inoculant aiming high yields. The experimental design was a randomized block with four replications and treatments were arranged in a factorial 3 x 4, corresponding to three doses of inoculant, at a concentration of 0, 100 and 200 ml ha⁻¹, and four doses of nitrogen, 0, 60, 120 and 180 kg N ha⁻¹ applied on V4 -V8 stage using urea as a source. The cultivar used was the hybrid DKB 290 VT PRO 3[®]. There was no interaction between doses of inoculant x nitrogen doses for any of the response variables. The inoculant affected, quadratically, the nitrogen content in the ear. In turn, the increasing levels of nitrogen linearly increased nitrogen content in the leaf and the yield of corn grain.

Keywords: Nitrogen. Biologic nitrogen fixation. Yield.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Produtividade em kg ha^{-1} em função de doses de nitrogênio em um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho. Pato Branco – PR.....26
- Figura 2 – Teor de N na espiga (NE) em % em função de doses de inoculante em um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho. Pato Branco – PR.....29
- Figura 3 – Teor de N na folha (NF) em % em função de doses de nitrogênio em um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho. Pato Branco – PR.....31

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Caracterização química da área experimental (camada de 0-20 cm), antes do início do experimento..... 22
- Tabela 2 – Graus de liberdade (GL), Quadrados médios da análise de variância de um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho, para as variáveis: Produtividade em kg ha⁻¹ (Prod), número de fileiras por espiga (F/E), número de grãos por fileira (G/F), número de grãos por espiga (G/E) e peso de mil grãos em gramas(PMG). Pato Branco – PR, 2015/2016. 25
- Tabela 3 – Componentes de rendimento de milho em função de doses de inoculante foliar *Azospirillum brasiliense* e doses de nitrogênio em cobertura.....28
- Tabela 4 – Graus de liberdade (GL), Quadrados médios da análise de variância de um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho, para as variáveis: Fósforo na inflorescência em % (PI), potássio na inflorescência em % (KI), nitrogênio na inflorescência em % (NI), fósforo na espiga em % (PE), potássio na espiga em % (KE) e nitrogênio na espiga em % (NE). Pato Branco – PR, 2015/2016..... 28
- Tabela 5 – Graus de liberdade (GL), Quadrados médios da análise de variância de um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho, para as variáveis: Fósforo na folha em % (PF), potássio na folha em % (KF), nitrogênio na folha em % (NF), fósforo no colmo em % (PC), potássio no colmo em % (KC) e nitrogênio no colmo em % (NC). Pato Branco – PR, 2015/2016..... 30

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
SEAB	Secretaría da Agricultura e Abastecimento do Paraná
USDA	United States Department of Agriculture

LISTA DE ABREVIATURAS

F/E	Fileiras por espiga
FBN	Fixação biológica de nitrogênio
G/E	Grãos por espiga
G/F	Grãos por fileira
KC	Potássio no colmo
KE	Potássio na espiga
KF	Potássio na folha
KI	Potássio na inflorescência
NC	Nitrogênio no colmo
NE	Nitrogênio na espiga
NF	Nitrogênio na folha
NI	Nitrogênio na inflorescência
PC	Fósforo no colmo
PE	Fósforo na espiga
PF	Fósforo na folha
PI	Fósforo na inflorescência
PMG	Peso de mil grãos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 GERAL.....	15
2.2 ESPECÍFICOS.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO.....	16
3.2 O NITROGÊNIO E A FIXAÇÃO BIOLÓGICA.....	17
3.3 O GÊNERO <i>AZOSPIRILLUM</i>	18
3.4 INOCULAÇÃO VIA SOLO X INOCULAÇÃO FOLIAR.....	20
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL.....	22
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	22
4.3 CARACTERES AVALIADOS.....	23
4.4 ANÁLISE DOS DADOS.....	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
5.1 COMPONENTES DE RENDIMENTO E RENDIMENTO DE GRÃOS DE MILHO	25
5.2 TEORES DE N, P E K EM PARTES DA PLANTA DE MILHO.....	28
6 CONCLUSÕES.....	32
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

O milho tem grande importância social, econômica e cultural para o Brasil, sendo cultivado em pouco mais de 15 milhões de hectares (somando 1ª e 2ª safras), especialmente nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2015), no Brasil a produtividade média alcançada na safra 2014/15 foi de 5.401 kg ha⁻¹, sendo considerada baixa, em comparação com outros países como os Estados Unidos da América.

A cultura do milho é influenciada por problemas de estresse ambiental, dentre os quais se destaca principalmente a baixa fertilidade dos solos, que, em sua maioria, apresentam deficiência de N, a qual pode reduzir o rendimento de grãos de milho de 14 a 80 % (FANCELLI; DOURADO-NETO, 2000).

Com isso, para se alcançar o rendimento máximo no cultivo de cereais, como o milho, é necessária à aplicação de altas doses de fertilizantes, principalmente adubos nitrogenados. No entanto, esse insumo é caro, podendo representar cerca de 26% no custo de produção, além de, se mal utilizado pode apresentar riscos ambientais decorrentes de perdas por volatilização de NH₃, lixiviação de NO₃⁻ ou por emissão de N₂O. Além disso, se destaca a elevada dependência do Brasil na importação de fertilizantes nitrogenados, fato que pode prejudicar a soberania alimentar. Em função disso, torna-se fundamental a realização de estudos que visem uma melhor eficiência no aproveitamento do nitrogênio.

Nos últimos anos foi possível a descoberta de novas fontes de nitrogênio como a utilização de bactérias diazotróficas microaeróbias, do gênero *Azospirillum*, as quais promovem a fixação de nitrogênio atmosférico, quando em vida livre, e, quando associadas à rizosfera das plantas podem contribuir com o processo de fixação reduzindo o uso de nitrogênio. Para a cultura do milho as bactérias responsáveis pela otimização dessa possível simbiose são as do gênero *Azospirillum*, que são associadas ao crescimento de gramíneas, sendo chamadas de BPC (Bactérias Promotoras de Crescimento) podendo resultar em incrementos de produtividade e em diminuição dos custos de produção, principalmente da

aquisição de adubos nitrogenados (OKON; VANDERLEYDEN, 1997) que são utilizados intensamente nessa cultura.

As BPC são microrganismos que vivem em associação simbiótica com as plantas, promovendo uma maior eficiência na fixação de nitrogênio, desse modo, auxiliam no aumento da área de absorção radicular, trazendo como benefício melhorias nos teores de clorofila, prolina, condutância estomática e potencial hídrico. Como a absorção de água é maior, a elasticidade da parede celular também é paralela a isso, maior altura de planta e maior produção de biomassa também são características afetadas pelo processo (BARASSI et al., 2008).

Diante disso, técnicas de inoculação dessas bactérias vêm sendo utilizadas no Brasil, podendo gerar uma economia de 30 a 50 kg ha⁻¹ de nitrogênio na forma de adubo sintético (FANCELLI, 2010). De acordo com Hungria (2011), a inoculação das sementes com agente fixador de N associada à adição de 24 kg ha⁻¹ de N na semeadura e 30 kg ha⁻¹ de N em cobertura no estágio de florescimento, proporciona rendimentos médios em torno de 7000 kg ha⁻¹ e desta forma, viabiliza a “safrinha” em regiões onde é possível produzir duas safras por ano.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar o desempenho do milho em função da aplicação de diferentes doses de nitrogênio combinado as doses de inoculante foliar, visando altas produtividades.

2.2 ESPECÍFICOS

Avaliar o desempenho do milho DEKALB 290 VT PRO3® em função da aplicação de 4 doses de nitrogênio combinado a 3 doses de inoculante foliar, verificando a influência sobre o acúmulo de NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) nas folhas, colmo, espigas e inflorescência (pendão).

Avaliar o número de grãos por espiga (G/E), número de fileiras por espiga (F/E), peso de mil grãos (PMG) e o rendimento total de grãos (RG) em função dos tratamentos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) caracteriza-se por ser uma gramínea anual, com metabolismo C4, alógama de origem nas Américas (GARCIA et al., 2006) possuindo sistema radicular fasciculado, podendo atingir até 3 m de profundidade, mas, a maior parte dessas raízes se encontra na camada mais superficial (0-30 cm).

Atualmente o milho é o cereal mais produzido no mundo. De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a produção mundial na safra 2014/15 superou 1 bilhão de toneladas, representando crescimento de 1,7% em relação a safra anterior. A produção mundial de grãos incluindo o arroz e o trigo superou 2,5 bilhões de toneladas na safra 2014/15 sendo que o milho corresponde a 40% deste total (USDA, 2015). O maior produtor de milho continua sendo os Estados Unidos, seguido da China e em terceiro o Brasil correspondendo a 35,8%, 21,4% e 8,4% respectivamente da produção mundial (SEAB, 2015). No Brasil, os maiores estados produtores na safra 2014/2015 foram: Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, correspondendo a 75,5% da produção nacional (CONAB, 2016).

O milho é muito exigente em alguns nutrientes, em específico ao nitrogênio, onde estima-se que para que se produza uma tonelada de grão é necessário a aplicação de uma quantidade de 20 kg ha⁻¹ de N (COELHO et al. 2010). Para que a planta de milho se desenvolva satisfatoriamente e esteja fisiologicamente preparada para elevadas produtividades faz-se necessária a aplicação de 30 a 50 kg ha⁻¹ de N na semeadura de milho (FANCELLI; DOURADO NETO, 2009). Levando em conta que a maioria dos solos das regiões tropicais é pobre em N, se faz necessário suprir a demanda das plantas de milho pelo referido nutriente (BORTOLINI et al., 2001; SOUZA, 2006).

Para as fontes de N normalmente comercializadas no Brasil, estima-se que em torno de 50% de todo o N aplicado no solo é aproveitado pelas plantas. As principais perdas ocorrem principalmente por processos de lixiviação, volatilização, desnitrificação, erosão e imobilização microbiana, sendo que, 10-80% pode ser

perdido na forma de gases (volatilização e desnitrificação) e 25-30% pode ser perdido por imobilização microbiana (SAIKIA; JAIN, 2007). Assim, existe a possibilidade de ações conjuntas entre N e bactérias diazotróficas na assimilação de nitrogênio, visando reduzir a aplicação ou dependência de fertilizantes nitrogenados sintéticos (REIS JÚNIOR et al., 2008).

3.2 O NITROGÊNIO E A FIXAÇÃO BIOLÓGICA

O nitrogênio é elemento essencial para a utilização de carboidratos pela planta, age como estimulador de crescimento e desenvolvimento de folhas, caule e raízes, promovendo maior absorção de outros nutrientes (TAIZ; ZEIGER 2009). Pelo fato de que o nitrogênio é absorvido em maior quantidade, sua demanda em sistemas de cultivo é um fator limitante do pleno desenvolvimento e produção de plantas (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

De acordo com Taiz; Zeiger (2009), seguido da fotossíntese, o processo de fixação biológica de N se torna o segundo processo biológico mais importante, sendo responsável por cerca de 60-65% de todo o N que é fixado na superfície terrestre.

A fixação biológica de nitrogênio é o processo de conversão de N gasoso (N_2) em outras espécies químicas nitrogenadas promovidas por alguns organismos, que empregam o N_2 fixado na biossíntese de proteínas e ácidos nucléicos (NUNES et al., 2003). Dessa forma, para que a fixação biológica seja possível de acontecer existem bactérias chamadas de rizobactérias as quais se associam as raízes das plantas e que promovem alterações no metabolismo das plantas e posteriormente a fixação biológica.

Na natureza encontram-se associações de bactérias fixadoras de nitrogênio com plantas e também na forma de vida livre, distribuídas amplamente pelo solo (DIDONET et al., 2000).

Em leguminosas as bactérias fixadoras de nitrogênio são caracterizadas por estabelecerem uma relação de simbiose com a planta, formando nódulos facilmente observados na rizosfera de plantas como a soja (PINTO, 2008).

Dentre os principais gêneros de bactérias simbióticas podemos destacar o *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* e *Mesorhizobium*.

O grupo denominado “rizóbio” é formado por bactérias alfa-Proteobactérias gram-negativas, aeróbicas obrigatórias que produzem hipertrofias corticais em plantas, denominadas nódulos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Em áreas temperadas as bactérias do gênero *Rhizobium* são caracterizadas por apresentar rápido crescimento e acidificação.

Diferentemente das bactérias de vida livre, as bactérias simbióticas apresentam três etapas para estabelecimento da relação de simbiose com a rizosfera das plantas: pré-infecção (reconhecimento dos simbiontes e interações entre superfície da bactéria e da planta), infecção da planta pela bactéria e formação de nódulo e funcionamento dos nódulos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Em gramíneas é possível observar a existência de bactérias diazotróficas capazes de fixar N_2 e fornecê-lo às plantas através de associação principalmente com as raízes, por isso as mais estudadas na cultura do milho são as do gênero *Azospirillum*. De modo geral as BPC estabelecem uma relação de simbiose com a planta, porém, as do gênero *Azospirillum* são caracterizadas por serem de vida livre e com isso não estabelecem uma relação de simbiose como em leguminosas.

A utilização dessas bactérias pode promover uma menor dependência de fertilizantes sintéticos, aumentando a eficiência do processo biológico de fixação e tornando o sistema mais sustentável, visando lucro maior ao produtor que busca eficiência de produção (BALDANI et al., 2002).

3.3 O GÊNERO AZOSPIRILLUM

As bactérias do gênero *Azospirillum* ocorrem em raízes de gramíneas forrageiras, milho, sorgo, arroz e trigo, em solos do Brasil, México, Argentina entre outras regiões de clima temperado (DOBEREINER,1992). Além do enriquecimento de *Azospirillum* na rizosfera, o papel desta bactéria quando associada ao milho é proporcionar aumento da atividade de nitrogenase (medida pela diminuição de acetileno) (DOBEREINER,1992).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são caracterizadas por serem de vida livre, gram-negativas e que associam-se a gramíneas e durante o processo de colonização, utilizam como fonte para seu metabolismo fontes de nitrogênio como amônia, nitrato, nitrito, nitrogênio molecular e aminoácidos (QUADROS, 2009).

Diante dos diferentes gêneros e espécies de bactérias, *Azospirillum brasiliense* vem tendo destaque devido a sua ampla distribuição, tanto em solos tropicais como subtropicais, quando associadas à rizosfera de gramíneas promove o estímulo do crescimento vegetal, o que traz aumento de produtividade e concentrações de nitrogênio nas plantas (REIS, 2000).

No Brasil não se teve um efeito significativo do uso de *Azospirillum brasiliense* pois, ocorre em abundância em solos brasileiros e somente pode-se esperar um efeito de inoculação em condições de campo se forem introduzidas certas estirpes selecionadas de *Azospirillum brasiliense* que não ocorram em solos brasileiros (DOBEREINER,1992). Mesmo que não se tenha um resultado expressivo a nível de campo é notório que quantidades economicamente importantes estão sendo fixadas no solo sem nenhuma inoculação (DOBEREINER,1992).

Em contrapartida Vogel (2013) cita que o uso da inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum brasiliense* influencia no aumento da taxa acúmulo de matéria seca, altura e biomassa, acelera a taxa de germinação e emergência de plântulas e também no crescimento do sistema radicular de plantas de arroz, o que acarreta em aumento de produtividade.

Barassi et al. (2008) observaram que houve um aumento na eficiência fotossintética das folhas e condutância estomática, incremento na produção de matéria seca e maior altura nas espécies de tomate, algodão, cana-de-açúcar e arroz. A inoculação em espécies como trigo, cevada e aveia-branca aumentou significativamente a produtividade, com variações entre estes cereais de inverno (DIDONET, 1998; DALLA SANTA et al., 2004).

Quadros (2009), durante um experimento desenvolvido com milho, observou que o uso de inoculação de sementes com *Azospirillum brasiliense* associado à dose de 50 kg ha⁻¹ de N na base, supriu a demanda equivalente ao uso de 130 kg ha⁻¹ de N sem inoculação, mostrando-se efetivo na redução do uso de adubos químicos (fertilizantes).

3.4 INOCULAÇÃO VIA SOLO X INOCULAÇÃO FOLIAR

É de conhecimento que a prática de inoculação comumente é realizada via aplicação na semente sendo utilizado na forma solúvel (líquido) e turfoso. A utilização de inoculante turfoso é a mais observada no Brasil, pelo fato de ser realizada no momento do plantio e misturada a semente, porém, quando se trata de milho devido a embalagem vir diretamente da empresa com tratamento de sementes, a prática da inoculação fica prejudicada.

Por sua vez para o inoculante líquido, existem vários cuidados que devem ser observados para o seu correto uso e funcionalidade, dentre os quais se destacam a distribuição homogênea, evitar exposição ao sol e altas temperaturas, semear no máximo 24 h após a inoculação, entre outros fatores que comprometem sua funcionalidade.

Atualmente o principal problema do uso de inoculante, tanto em milho como em soja, é a incompatibilidade com fungicidas e inseticidas utilizados no tratamento de sementes (HUNGRIA et al., 2007). Na cultura do milho o problema é ainda maior, pois, existe incompatibilidade com os inseticidas utilizados no tratamento de sementes.

Em função da grande incompatibilidade de *A. brasilense* com os produtos químicos utilizados no tratamento de sementes (CROES et al., 1993), há necessidade de se buscar métodos alternativos de inoculação que possibilitem seu uso. Dessa forma, um método que vem sendo estudado é a inoculação no sulco de semeadura. De acordo com Basi et al. (2011) a inoculação com *A. brasilense* (estirpes Abv5/Abv6), tanto no sulco de plantio como na semente, resultou em aumento na produtividade da cultura do milho, independente da dose de N aplicado a cultura em cobertura.

Outro método utilizado recentemente, e que vem crescendo, é a aplicação de inoculante via foliar. Com este método evita-se uma das maiores preocupações que ocorre na inoculação via semente que é a sua incompatibilidade com determinados tipos de fungicidas, herbicidas e inseticidas que podem proporcionar efeitos prejudiciais (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Em função do apelo comercial pelo uso de inoculante foliar, associado ao fato de alguns trabalhos demonstrarem essa possibilidade de uso, existe a necessidade de ampliação desses estudos de forma a testar a eficiência do método. No entanto, vale ressaltar que o *Azospirillum brasiliense* é um organismo de solo, portanto, espera-se efeito quando a inoculação for feita na semente ou no sulco de plantio.

Em um experimento conduzido em Patos de Minas-MG, Martins et al. (2012), avaliando o uso de inoculante foliar e inoculante na semente, verificaram que para os 29 híbridos de milho estudados a aplicação foliar mostrou-se tão eficiente quanto a inoculação via semente, sendo uma alternativa viável ao produtor e facilitando o manejo.

Junges (2015), em um experimento conduzido em Campo Mourão, na safra 2013/14, utilizando inoculante Masterfix L Gramíneas e aplicando por meio de três métodos diferentes de inoculação (via foliar, via sulco e via semente) concluiu que não houve diferença estatística para a variável produtividade em nenhum dos tratamentos, sendo que, a aplicação foliar foi realizada no estágio V4 por meio do uso de um pulverizador costal.

De uma maneira geral, o uso de inoculação foliar não tem embasamento teórico devido a inexistência de conceitos científicos que abordem a real funcionalidade e o resultado positivo em relação ao seu uso. Inicialmente o uso de *Azospirillum brasiliense* foi voltado para a aplicação em solo (semente ou sulco), porém, nos últimos anos a utilização via aplicação aérea (foliar) vem tendo destaque devido a sua facilidade de aplicação. Não se tem um dado expressivo a nível científico que justifique o seu uso via foliar, porém, comercialmente o uso de inoculação foliar vem tendo destaque principalmente na região do Sudoeste Paranaense, por se constituir em uma alternativa para aumentar a disponibilidade de nitrogênio para a cultura do milho de forma menos onerosa e ecologicamente mais limpa.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL

O experimento foi conduzido na propriedade de Domingos Bosquetti no interior do município de Pato Branco-Paraná, situado na latitude 26°13'43"S, longitude de 52°40'14"W com altitude média de 761 m acima do nível médio do mar, durante a safra 2015/2016.

O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico (EMBRAPA, 2006), cuja condição química está descrita na Tabela 1. O clima da região é classificado como Cfa ou subtropical úmido segundo a classificação de Koppen, com temperatura média do mês mais frio inferior a 18°C e temperatura média do mês mais quente acima de 22°C, com ocorrência de geadas no inverno e verões quentes.

Tabela 1 – Caracterização química da área experimental (camada de 0-20 cm), antes do início do experimento

pH- CaCl ₂	MO	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	V
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	-----	cmol _c dm ⁻³ -----		-----		%
5,7	21,4	14,1	0,18	12,6	3,6	0,00	3,68	81,7

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

Na estação de inverno foi semeada aveia para cobertura de solo, e após o perfilhamento foram aplicados 40 kg ha⁻¹ de N e 60 kg ha⁻¹ de K₂O usando uréia branca (45% de N) e KCl (60% de K₂O) como fontes, respectivamente. No dia 06 de agosto de 2015 foi realizada a dessecação na área utilizando o herbicida Roundup Transorb na dosagem de 2,5 L ha⁻¹ e óleo mineral Áureo na dosagem de 0,5 L ha⁻¹.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições e os tratamentos foram dispostos em fatorial 3 x 4, envolvendo três doses de inoculante comercial (0, 100 e 200 ml ha⁻¹) e quatro doses de nitrogênio (0, 60, 120 e 180 kg de N ha⁻¹) na forma de uréia em uma única aplicação

quando as plantas estavam com 4 a 8 folhas expandidas (Apêndice A). Foi utilizado o cultivar híbrido de milho DKB 290 VT PRO 3[®].

O inoculante líquido utilizado para a pulverização foliar foi a base de *Azospirillum brasiliense* das estirpes AbV5 e AbV6, da empresa Stoller[®], marca MasterFix[®] L Gramíneas, aplicado no estágio V4 por meio da utilização de um cilindro de CO₂ com uma ponteira de 3 bicos espaçados 0,50 m, com vazão de 200 L ha⁻¹ no dia 29/09/2015.

A semeadura do milho foi realizada no dia 31 de agosto de 2015 com uma semeadora adubadora PAR 2800, em parcelas de 5 metros lineares com cinco linhas, espaçadas entre linhas de 0,45 m, com espaçamento entre plantas de 0,27 m, totalizando 80.000 plantas ha⁻¹. As parcelas foram dispostas a 0,75 metros entre si e os blocos a 2,5 m. A adubação de base foi na formulação 08-20-15, na quantidade de 450 kg ha⁻¹, visando alta produtividade, sendo que não houve aplicação de inseticida e fungicida após a semeadura.

4.3 CARACTERES AVALIADOS

Foram avaliados os seguintes componentes de rendimento: peso de mil grãos (PMG), número de grãos por espiga (G/E), número de grãos por fileira (G/F), número de fileiras por espiga (F/E). Para determinação do peso de mil sementes foram contados 100 grãos realizando 3 repetições e pesadas com auxílio de balança de precisão, onde não poderia haver variação maior que 4% entre as amostras. Para o número de grãos por espiga, número de fileiras por espiga e número de grãos por fileira foram coletadas dez espigas e realizado o procedimento de contagem.

O rendimento de grãos foi avaliado a partir da coleta de dez plantas no dia 08/02/2016, onde as amostras foram pesadas e determinado o teor de umidade. A partir do valor da umidade foi realizada a correção para umidade de 13%. O rendimento foi determinado pela divisão do peso da massa de grãos das dez espigas pela área ocupada levando em consideração o fator da umidade.

Também foram avaliados os teores de N, P e K acumulados na planta nas folhas, colmo, espiga e pendão, as quais foram coletadas dia 23/11/2015 onde

as plantas de milho encontravam-se no estágio R1 – R2. (6 a 15 dias após o embonecamento). Essas análises seguiram metodologia descrita em Tedesco et al. (1995).

4.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram tabulados e após isso submetido às análises de variância e posteriormente o teste F com nível de 5 % de probabilidade de erro. Também foram realizadas as regressões para os casos onde não houve interação dos fatores utilizando o programa GENES (CRUZ, 2013).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 COMPONENTES DE RENDIMENTO E RENDIMENTO DE GRÃOS DE MILHO

O quadro da análise de variância mostra que a adubação nitrogenada influenciou a produtividade de grãos de milho. Os demais componentes de rendimento, F/E, G/F, G/E e PMG não foram afetados pelos tratamentos, tanto de doses de N quanto de doses do inoculante (Tabela 2). Para todos os parâmetros analisados, o coeficiente de variação foi baixo, indicando boa precisão das inferências testadas e correta condução do experimento (Tabela 2).

Tabela 2 – Graus de liberdade (GL), Quadrados médios da análise de variância de um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho, para as variáveis: Produtividade em kg ha⁻¹ (Prod), número de fileiras por espiga (F/E), número de grãos por fileira (G/F), número de grãos por espiga (G/E) e peso de mil grãos em gramas (PMG). Pato Branco – PR, 2015/2016.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios				
		Prod	F/E	G/F	G/E	PMG
Blocos	3	11284716,98*	0,15 ^{ns}	7,69 ^{ns}	2392,63 ^{ns}	2569,74*
Doses de Inoculante	2	2919220,61 ^{ns}	0,22 ^{ns}	4,30 ^{ns}	612,01 ^{ns}	89,33 ^{ns}
Doses de N	3	8933637,19*	0,16 ^{ns}	9,14 ^{ns}	1482,34 ^{ns}	640,35 ^{ns}
Inoculante X N	6	1572088,63 ^{ns}	0,21 ^{ns}	5,16 ^{ns}	1698,22 ^{ns}	856,17 ^{ns}
Erro	33	2167719,29	0,27	5,86	2213,95	492,55
Média Geral	-	13624,79	17,13	30,85	528,68	435,14
CV (%)	-	10,81	3,04	7,84	8,90	5,10

Valores seguidos de * são significativos em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F da Anova, ^{ns} não significativos.

Na variável produtividade foi ajustado um modelo de regressão linear para ajuste dos dados, logo a maior produtividade foi obtida com a aplicação da maior dose de N. Conforme a equação de regressão, a produtividade de milho variou de 13.043 para 14.621 kg ha⁻¹, com a aplicação de 0 e 180 kg de N ha⁻¹, respectivamente (Figura 1).

Observando a produtividade alcançada na dose de 0 kg de N ha⁻¹ pode-se dizer com base nas informações da análise da área experimental que apesar da matéria orgânica apresentar um teor baixo de 21,4 g dm⁻³ os teores de P, relação Ca/Mg e V% são altos, além do pH de 5,7. Estes fatores podem contribuir para a alta produtividade obtida na menor dose, além de outros fatores como a palhada

remanescente da cultura da aveia e as constantes chuvas que ocorreram durante o desenvolvimento da cultura.

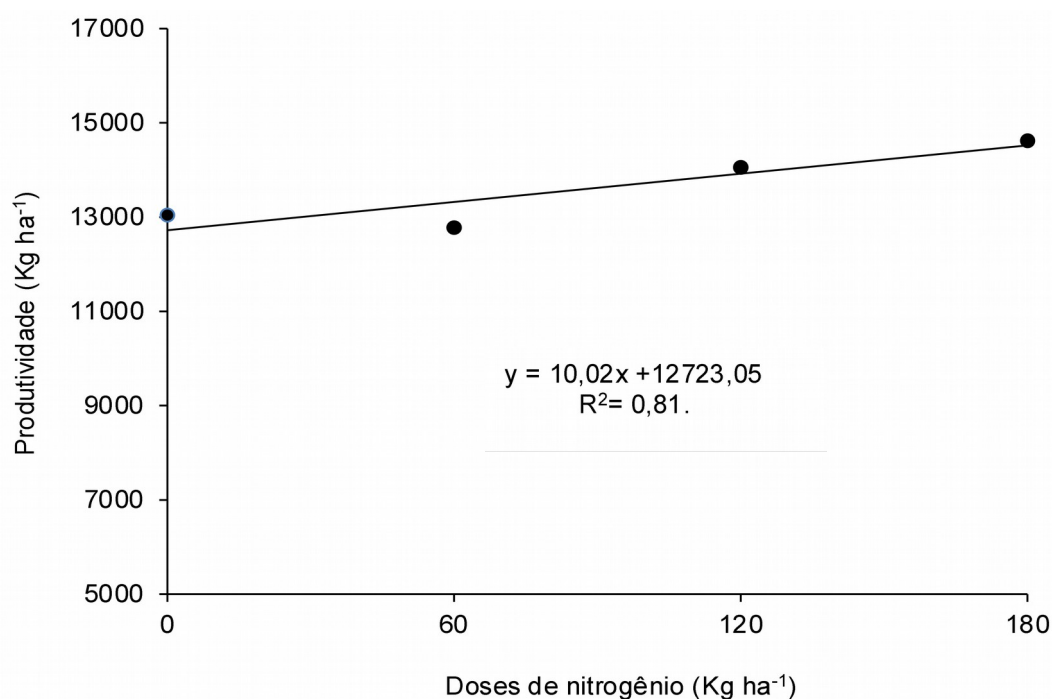


Figura 1 – Produtividade em kg ha⁻¹ em função de doses de nitrogênio em um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho. Pato Branco – PR.

Araújo et al. (2004) destacam o efeito positivo quanto as doses de N, onde com a aplicação de 240 kg ha⁻¹ a produtividade teve incremento de 28% comparado com a dose 0 kg ha⁻¹ de N.

Gazola et al. (2014) em experimento utilizando diferentes doses de nitrogênio concluiu que a máxima produtividade de milho safrinha ocorreu na dose de 149,5 kg ha⁻¹ de N, promovendo um acréscimo de produtividade de 46% em relação ao tratamento controle, sem aplicação de nitrogênio.

Destaque para a alta produtividade de milho obtida sem a aplicação de N em cobertura. Isso pode ser creditado ao fato de que a aveia, cultivada anteriormente, recebeu a aplicação de nitrogênio, embora em baixa quantidade, o qual pode ter sido disponibilizado para a cultura do milho. Além disso, quando da semeadura do milho foram aplicados 36 kg de N ha⁻¹, os quais devem ter evitado alguma possível imobilização de nitrogênio do solo pelos microrganismos.

É possível estabelecer uma relação quanto ao nitrogênio aplicado relacionado ao aumento de produtividade, sendo assim, o uso de 1 kg ha^{-1} de N, com custo médio de R\$ $3,21 \text{ kg}^{-1}$ promove o acréscimo de produção de 10 kg de milho. Comercializando esses 10 kg de milho a um preço médio dos últimos 5 anos de R\$ 22,50 a saca (R\$ $0,375 \text{ kg}^{-1}$) tem-se um montante de R\$ 3,75, diminuindo do custo de aquisição do nitrogênio de R\$ 3,21 tem-se um lucro líquido de R\$ 0,54 a cada kg de N utilizado. Dessa maneira, o uso de 180 kg ha^{-1} de N é válido. Atualmente o preço do milho é mais atrativo que na média histórica dos últimos 5 anos, fator que pode influenciar na maior demanda pela aquisição de fontes nitrogenadas para a cultura do milho.

Tratando-se da aplicação foliar de *Azospirillum brasiliense* não foi possível observar qualquer benefício em produtividade do milho.

Isso também foi observado por Kappes et al.(2013), em experimento conduzido em Itiquira (MT) combinando 2 doses de inoculante foliar (0 e 250 ml ha^{-1}) e 5 doses de nitrogênio foliar (0,30,60,90 e 120 kg ha^{-1}) concluiu que não houve efeito no rendimento do milho em função da dose de inoculante utilizada quando aplicadas no estágio V5. Possíveis motivos da não funcionalidade do inoculante podem ser o uso no estágio inadequado e a aplicação de estirpes já presentes no solo. Contudo, novas pesquisas podem ser realizadas, uma vez que fatores como genótipo, condições edafoclimáticas e estirpe da bactéria utilizada podem influenciar no resultado.

Em contrapartida, para Portugal et al. (2012) o uso de inoculação foliar no estágio V6 proporcionou um incremento de produtividade de 14,7% na cultura do milho quando comparado com a testemunha sem inoculação foliar.

Embora não responsivos aos tratamentos, os resultados dos componentes de rendimento são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Componentes de rendimento de milho em função de doses de inoculante foliar *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura.

Doses de inoculante (ml ha ⁻¹)	Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)			
	0	60	120	180
	----- F/E -----			
0	17,30	16,50	17,20	17,20
100	17,80	16,40	17,30	17,30
200	17,40	17,80	17,50	17,40
	----- G/F -----			
0	30,60	29,10	30,70	31,30
100	30,90	27,80	31,90	32,70
200	29,40	31,70	30,90	31,10
	----- G/E -----			
0	523,87	494,47	534,10	536,11
100	532,45	477,25	550,25	552,76
200	505,21	554,29	525,44	544,23

5.2 TEORES DE N, P E K EM PARTES DA PLANTA DE MILHO

Em relação aos teores nutricionais na inflorescência e na espiga de milho, o único efeito dos tratamentos foi observado para nitrogênio na espiga (NE), em resposta às doses de inoculante (Tabela 4). Os coeficientes de variação para nutrientes na inflorescência e na espiga também podem ser considerados baixos. (Tabela 4).

Tabela 4 – Graus de liberdade (GL), Quadrados médios da análise de variância de um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho, para as variáveis: Fósforo na inflorescência em % (PI), potássio na inflorescência em % (KI), nitrogênio na inflorescência em % (NI), fósforo na espiga em % (PE), potássio na espiga em % (KE) e nitrogênio na espiga em % (NE). Pato Branco – PR, 2015/2016.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios					
		PI	KI	NI	PE	KE	NE
Blocos	3	0,0043 ^{ns}	2,39*	0,23 ^{ns}	0,025*	2,52 ^{ns}	1,02*
Doses de Inoculante	2	0,0070 ^{ns}	0,77 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,012 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,88*
Doses de N	3	0,0055 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,066 ^{ns}
Inoculante X N	6	0,0048 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,0046 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,14 ^{ns}
Erro	33	0,011	0,62	0,37	0,0042	1,61	0,22
Média Geral	-	0,42	5,42	2,85	0,33	7,02	1,82
CV (%)	-	25,71	14,49	21,31	19,73	18,08	25,68

Valores seguidos de * são significativos em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F da Anova, ^{ns} não significativos.

O teor de NE teve comportamento quadrático em relação às doses de inoculante (Figura 2). De acordo com Guerreiro (2008), quando se usa o inoculante (*Azospirillum brasiliense*) ocorre maior produção de fitohormônios como as auxinas, giberelinas e citocininas, o que faz a planta mobilizar uma maior quantidade de nitrogênio e potássio da rizosfera para a parte aérea, sendo um possível motivo que pode explicar o maior acúmulo de N na espiga.

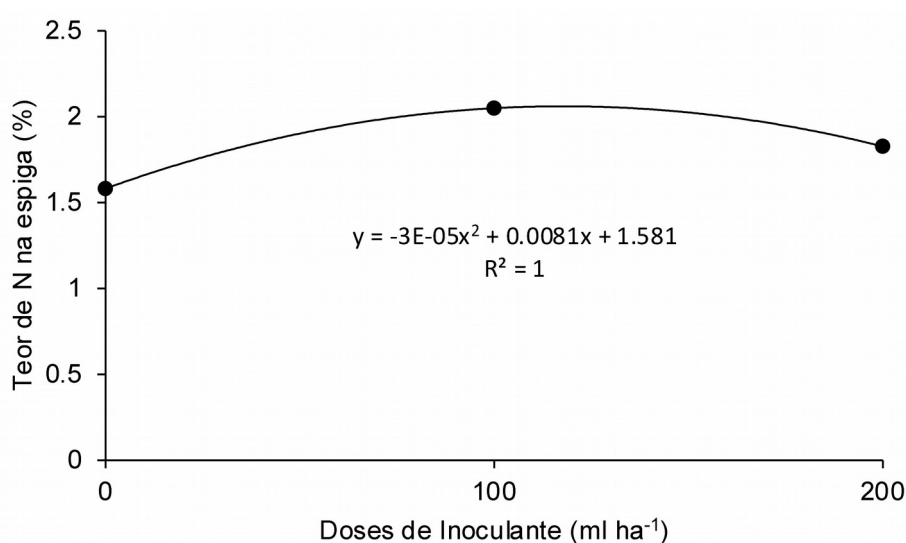


Figura 2 – Teor de N na espiga (NE) em % em função de doses de inoculante em um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho. Pato Branco – PR.

Quanto aos nutrientes na folha e no colmo de milho, se observou efeito significativo para a variável NF (nitrogênio na folha) em resposta às doses de N (Tabela 5). A exceção do PC, que apresentou coeficiente de variação superior a 35%, os demais são considerados baixos (Tabela 5).

Tabela 5 – Graus de liberdade (GL), Quadrados médios da análise de variância de um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho, para as variáveis: Fósforo na folha em % (PF), potássio na folha em % (KF), nitrogênio na folha em % (NF), fósforo no colmo em % (PC), potássio no colmo em % (KC) e nitrogênio no colmo em % (NC). Pato Branco – PR, 2015/2016.

Causas de Variação	GL	Quadrados Médios					
		PF	KF	NF	PC	KC	NC
Blocos	3	0,005*	2,35 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,014*	0,96 ^{ns}	0,41 ^{ns}
Doses de Inoculante	2	0,0004 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,0005 ^{ns}	0,0006 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,083 ^{ns}
Doses de N	3	0,0007 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,48*	0,0006 ^{ns}	1,52 ^{ns}	0,061 ^{ns}
Inoculante X N	6	0,0007 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,0006 ^{ns}	1,08 ^{ns}	0,057 ^{ns}
Erro	33	0,0014	0,85	0,10	0,0028	1,60	0,048
Média Geral	-	0,31	7,85	2,94	0,15	6,48	0,92
CV (%)	-	11,94	11,77	10,95	35,67	19,53	23,85

Valores seguidos de * são significativos em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F da Anova, ^{ns} não significativos.

A aplicação de N em cobertura propiciou aumento linear de N nas folhas do milho, semelhante ao observado para o rendimento de grãos (Figura 3). Conforme a equação de regressão, o teor de N na folha teve variação de 2,73% para 3,09% com as doses de 0 e 180 kg de N ha⁻¹, respectivamente, sendo que na dose de 120 kg de N ha⁻¹ se teve o maior teor de N na folha, alcançando 3,11%.

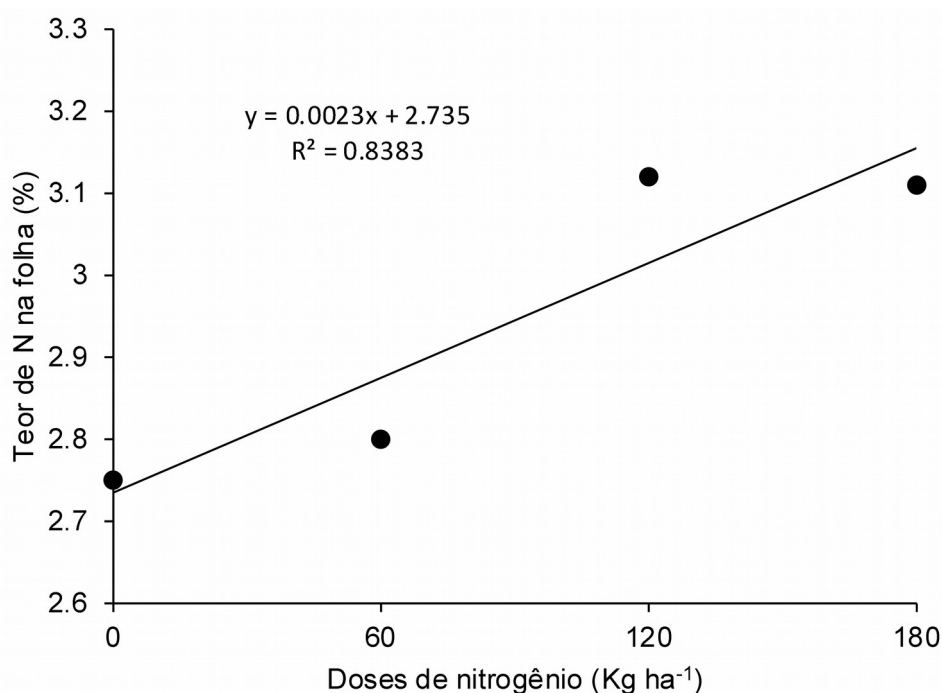


Figura 3 – Teor de N na folha (NF) em % em função de doses de nitrogênio em um experimento bifatorial (3 doses de inoculante X 4 doses de N) conduzidos no delineamento de blocos ao acaso com a cultura do milho. Pato Branco – PR.

De acordo com Silva et al. (2012) utilizando diferentes doses de nitrogênio em cobertura, o teor máximo de nitrogênio foliar foi alcançado utilizando a dose de 114,4 kg ha⁻¹ de nitrogênio em cobertura e a partir desta dose ocorreu um decréscimo no acúmulo de nitrogênio foliar.

Diante disso é possível verificar que para a dose de 120 kg ha⁻¹ resultou em maiores teores de nitrogênio na folha e a partir desta dose houve queda do teor de N, coincidindo com os índices mostrados por Silva et al. (2012).

Já para Portugal et al. (2012) em experimento conduzido no município de Selvíria – MS, utilizando 4 doses de nitrogênio e 2 doses de inoculante (com e sem inoculação foliar) conclui que o teor máximo de nitrogênio foliar foi alcançado para as maiores doses de nitrogênio aplicado em cobertura.

6 CONCLUSÕES

A produtividade de milho aumentou linearmente com as doses de N aplicadas em cobertura, atingindo 14.621 kg ha⁻¹ com a dose de 180 kg de N ha⁻¹. De forma semelhante, o teor de N nas folhas de milho também responderam linearmente ao aumento das doses de N.

A aplicação foliar de *Azospirillum brasiliense* não agregou produtividade ao milho. Efeito positivo foi observado apenas para o teor de N na espiga, não justificando o seu uso no presente estudo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visto que os trabalhos com inoculação em gramíneas são relativamente novos na área e não possuem grande aceitação no campo, recomenda-se realizar mais estudos com relação a aplicação de inoculante foliar em consórcio com o nitrogênio. Alguns estudos mostram resultados satisfatórios, porém, em contrapartida outros trabalhos mostram a ineficiência da utilização dos mesmos.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Luiz Alberto Navarro de.; FERREIRA, Manoel Evaristo.; CRUZ, Maria Cristina Pessôa da. Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.8, p.771-777, 2004.

AZEVEDO, Priscila T.M. Minhocas, fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em mudas de Araucária angustifolia 2010. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. 2010.

BALDANI, Jose I. et al. **Recent advances in BNF with non-legume plants. Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v.29, p.911-922, 1997.

BALDANI, Jose I. et al. Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria. Potencial biotecnológico de bactérias diazotróficas associativas e endofíticas. **Caxias do Sul: EDUCS**, 2002. 433p.

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

BASI, Simone.; LOPES, Édina Cristina P.; KAMINSKI, Tatyanna.H.; PIVATTO, R.A.D.; CHENG, N.C.; SANDINI, I.E. *Azospirillum brasilense* nas sementes e no sulco de semeadura da cultura do milho. In.: Semana de Integração, Ensino, Pesquisa e Extensão, 2. Resumos... Guarapuava: Anais da IISIEPE, 2011. 4p. ISSN-2236-7098.

BORTOLINI, Clayton Giani et al. Rendimento de grãos de milho cultivado após aveia-preta em resposta a adubação nitrogenada e regime hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.9, p.1101-1106, 2001.

COELHO, Antonio Marcos. et al. **Nutrição e adubação do milho**. In: CRUZ, José Carlos. (eds.) Sistema de Produção. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2010. Versão eletrônica. (Documentos EMBRAPA-CNPMS). Disponível em: <http://www.xnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_edVferaduba.ntm>. Acesso em: 13/07/2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira: grãos. Terceiro levantamento. Brasília: Conab, 2016. 19p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Central de Informações Agropecuárias. [Acessado 24 set. 2015] Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS//13_09_boletim_portugues_setembro_2013.pdf

CROES, C.L.; MOENS, Sara.; VAN BASTELAERE, E.; VANDERLEYDEN, Jos.; MICHIELS, Kris. W. The polar flagellum mediates *Azospirillum brasilense* adsorption to wheat roots. **Journal of General Microbiology**, v.139, p.2261-2269, mar. 1993.

CRUZ, C.D. **GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics**. Acta Scientiarum. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

DALLA SANTA, Osmar R. et al. *Azospirillum* sp. inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. Brazilian Archives of Biology and Technology. Curitiba, v.47, n.6, p.843-850, 2004.

DIDONET, Agostinho Dirceu.; LIMA, Osvaldo dos Santos.; CANDATEN, André Alessandro.; RODRIGUES, Osmar. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos em trigo submetidos à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 35, n. 2, p. 401-411, fev. 2000.

DOBEREINER, Johanna. Fixação de nitrogênio em associação com gramíneas. In: CARDOSO, Elke J.B.N.; TSAI, Sie M.; NEVES, Maria C. P. (Ed.) **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira do solo, 1992. 175-177p.

EPSTEIN, Emanuel.; BLOOM, Albert J. Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas. Londrina: Editora Planta, 2006. 403p.

FANCELLI, Antonio Luiz. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute Brazil, 2010. p.1-16. (Informações Agronômicas, 131).

FANCELLI, Antonio Luiz. Milho: ambiente e produtividade. In: FANCELLI, Antonio Luiz. & DOURADO-NETO, Durval., eds. **Milho: Estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003. p.174-197.

FANCELLI, Antonio Luiz.; DOURADO-NETO, Durval. Produção de milho. Guaíba, Agropecuária, 2000. 360p.

FANCELLI, Antonio Luiz.; DOURADO NETO, Durval. Milho: Manejo e Produtividade. Piracicaba: ESALQ/USP, 2009. 79 p

GALAL, Y. G. M. et al. Non-isotopic method for the quantification of biological nitrogen fixation and wheat production under field conditions. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, V.32, p.47-51, 2000.

GARCIA, João Carlos.; MATTOSO, Marcos Joaquim.; DUARTE, Jason de Oliveira.; CRUZ, José Carlos. **Aspectos econômicos da produção e utilização do milho**. Sete Lagoas, 2006. 12 p. (Circular Técnica. EMBRAPA, n. 74)

GAZOLA, Diego; ZUCARELI, Claudemir; SILVA, Raphael R.; FONSECA, Ines C. de B. Aplicação foliar de aminoácidos e adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, Campina Grande – PB, v.18 n.7, p.700-707, 2014.

GUERREIRO, Renato Tadeu. **Selecao de Bacillus spp Promotores de Crescimento de Milho**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de agronomia do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2008.

GYANESHWAR, Prasad.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil*, v.245, p.83-93, 2002.

HUNGRIA, Mariangela.; CAMPO, Rubens.J.; MENDES, Iêda.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina, Brasil, Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

HUNGRIA, Mariangela. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 37p. (Documentos, 325).

HUNGRIA, Mariangela. Nogueira M, A.; Araujo R. S.; Tecnologia de coinculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: Incremento no rendimento com sustentabilidade e baixo custo. **XXXIII Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil**. Londrina-PR, 2013

JUNGES, Andressa Batista; MAYESKI, Débora; ALVES, Cleber Belo; PETEAN, Leonardo Pim. Influência do *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho em diferentes modos de aplicação. In: Anais do **VI CONCCEPAR: Congresso Científico da Região Centro-Ocidental do Paraná** / Faculdade Integrado de Campo Mourão. - Campo Mourão, PR: Faculdade Integrado de Campo Mourão, 2015. ISSN 1983-7178.

KAPPES, Claudinei; ZANCANARO, Leandro; LOPES, Alessandro Aparecido; KOCH, Gilmar Volnei; Aplicação foliar de *Azospirillum brasiliense* e doses de nitrogênio em cobertura de milho safrinha. **Milho Safrinha XII Seminário Nacional**, Dourados – MS, 2013.

MARTINS, Fábio Aurélio Dias.; ANDRADE, Alex Teixeira.; CONDÉ, Aurizelza Batista Teixeira.; **Avaliação de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasiliense***. Pesquisa Agropecuária Gaúcha, Porto Alegre, V.18, N.2 – 2012.

MOREIRA, Fátima M. S.; SIQUEIRA, José Oswaldo. Microbiologia e bioquímica do solo. 2. ed., atual. e ampl. Lavras: Ed. UFLA, 2006. 729 p

NUNES, Fábio Souza.; RAIMONDI, Angela Cristina.; NIEDWIESKI, Antonio Carlos. Fixação de nitrogênio: estrutura, função e modelagem bioinorgânica das nitrogenases. Química Nova. São Paulo, v. 26, n. 6, p. 872-879, 2003.

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.

PANWAR, J. D. S.; SINGH, O. Response of *Azospirillum* and *Bacillus* on growth and yield of wheat under field conditions. *Indian Journal of Plant Physiology*, New Delhi v.5, p.108-110, 2000.

PINTO, Fabiana G. da Silva. **Biotecnologia de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio**. 2008. Disponível em: http://www.unioeste.br/cursos/cascavel/biotecnologia/aulas/2008/aula_bact_fixadora_N_2008.pdf Acesso em: 24/06/2016.

PORTUGAL, José Roberto; ARF, Orivaldo; LONGUI, Walter Vagaes; GITTI, Douglas de Castilho; Inoculação com *Azospirillum brasiliense* Via Foliar Associada à Doses de Nitrogênio em Cobertura na Cultura do Milho. **XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo** – Águas de Londóia, 2012.

QUADROS, Patrícia Dorr de. Inoculação de *Azospirillum spp.* em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul. 2009. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. 2009.

REIS JÚNIOR, Fábio Bueno dos. et al. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n.3, p.1139-1146, 2008b.

REIS JÚNIOR. Fábio Bueno dos. et al. **Isolamento, caracterização e seleção de estirpes de *Azospirillum amazonense* e *Herbaspirillum seropedicae* associadas a diferentes variedades de milho cultivadas no Cerrado**. Planaltina: EMBRAPA-CERRADOS, 2008a. 36p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento EMBRAPA-CERRADOS, ISSN 1676-918X, n.206).

SAIKIA, SIDDHARTH P.; JAIN, V. Biological nitrogen fixation with non-legumes: an achievable Target or a dogma? *Current Science*. Bangalore. v.92, n.3, p.317-322, 2007.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO Análise da Conjuntura do milho. Seab, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=240>
Acesso em: 21/06/2016.

SILVA, Adriane de Andrade; SILVA, Tales Souza; VASCONCELOS, Ana Carolina P. de; LANA, Regina Maria Q. **Aplicação de diferentes fontes de uréia de liberação gradual na cultura do milho.** Uberlândia, V.28 Supplement 1,p. 104-111, Mar. 2012.

SOUZA, Jeferson Antonio de. Manejo da fertilidade de solo para a cultura do milho. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n.233, p.26-37, 2006.

TAIZ, Lincoln.; ZEIGER, Eduardo. Fisiologia vegetal. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p

TEDESCO, M,J,; GIANELLO, C.; BISSANI, C,A. et al. Análise de solo, plantas e outros materiais.Porto Alegre : **Departamento de Solos**, UFRGS, 1995, 174p.

ÍNDICE DE APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE A – Croqui do experimento implantado na propriedade de Domingos Bosquetti, Pato Branco – Pr, 2015/2016.....	41
--	----

APÊNDICES

APÊNDICE A – Croqui do experimento implantado na propriedade de Domingos Bosquetti, Pato Branco – Pr, 2015/2016.

