

Eficiência da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado ao nitrogênio na cultura do milho

Maicon Diego Altmayer Rockenbach¹, Jimmy Walter Rasche Alvarez², Diego Augusto Fatecha Fois², Tales Tiecher³, Júlio Cesar Karajallo², Simeón Aguayo Trinidad²

¹Facultad de Ingeniería Agronómica, Filial Itakyry, Universidad Nacional del Este

²Facultad de Ciencias Agrarias/ Universidad Nacional de Asunción

³Departamento de Solos. Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Email autor correspondente: jwrasche@yahoo.com.ar

Artigo enviado em 13/02/2017, aceito em 22/03/2017.

Resumo: Considerando a importância do manejo do nitrogênio (N) e da fixação biológica de N através de bactérias diazotróficas, conduziu-se este experimento com o objetivo de avaliar os componentes da produção e produtividade do milho em função de doses de *Azospirillum. brasilense* associado à aplicação ou não de N em cobertura. O experimento foi conduzido no município de Mbaracayú, Paraguai, durante o ano agrícola 2015, sob um Latossolo Vermelho distróférico (Rhodic Paleudox). O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 2 × 4, com quatro repetições. O primeiro fator compreendeu as doses de N (0 e 60 kg ha⁻¹) e o segundo fator a inoculação das sementes com *A. brasilense* (testemunha sem inoculação, ½, 1 e 2 vezes a dose de *A. brasilense*). O híbrido utilizado foi o Pioneer 30K73®, semeado no espaçamento de 0,45 m entre linhas, com três plantas por metro linear. Foram mensurados componentes morfológicos e produtivos da cultura e produtividade de grãos. A aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura proporcionou maior altura de planta aos 60 dias; diâmetro de colmo; diâmetro, comprimento e massa seca de espiga; produtividade e massa de mil grãos. No entanto, o peso hectolitro não foi alterado. Com exceção do diâmetro da espiga, não houve influência nos parâmetros avaliados devido à inoculação das sementes com *A. brasilense*.

Palavras-chave: *Zea mays*, bactérias endofíticas, adubação nitrogenada.

Efficiency of application of *Azospirillum brasilense* associated with nitrogen in corn crop

Abstract: Considering the importance of nitrogen (N) management and biological N fixation through diazotrophic bacteria, this experiment was conducted in order to evaluate the maize production and yield components as a function of doses of *Azospirillum. brasilense* associated to the application or not from N in coverage. The experiment was conducted in Mbaracayú, Paraguay, during the agricultural year 2015, under a Latossolo Vermelho distróférico (Rhodic Paleudox). The experimental design was a randomized block in bifactorial arrangement 2x4, with four replications, where the factor 1 included the doses of N (0 and 60 kg ha⁻¹) and the second factor inoculation of the seeds with *A. brasilense* (control without inoculation, ½, 1 and 2 times the dose of

A. brasilense). The hybrid used was the Pioneer 30K73®, sown in the spacing of 0.45 m between rows, with three plants per linear meter. Were analyzed morphological and productive components of crop and grain yield. The application of 60 kg ha⁻¹ of N in cover provided higher plant height at 60 days; Stem diameter; Diameter, length and dry mass of spike; Productivity and mass of one thousand grains. However, the hectolitre weight did not change. With the exception of ear diameter, there was no influence on the evaluated parameters due to the inoculation of the seeds with *A. brasilense*.

Key words: *Zea mays*, endophytic bacteria, nitrogen fertilization generalizada, em casos mais graves perda foliar. A deficiência de N causa

Introdução

No Paraguai o milho é a segunda cultura em importância quando considerada a área de cultivo, perdendo em extensão somente para a cultura da soja. A área cultivada com milho passou de 440 mil ha em 2003 para 984 mil ha em 2014 (Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas, CAPECO, 2016). O cultivo no Paraguai é importante tanto para os pequenos quanto para os grandes produtores, pois serve como alimento para o consumo humano ou para a alimentação de animais, além de ser um dos principais produtos de exportação do Paraguai (Ministério de Agricultura y Ganaderia, MAG, 2008).

O milho é uma cultura exigente em nitrogênio (N), precisando aproximadamente de 22 kg de N por tonelada de grão produzido e exportando perto de dois terços do N absorvido para os grãos, por isso, o N é um dos nutrientes que mais limita a produtividade de grãos (GARCIA, 2005; CIAMPITTI et al., 2010). Cerca de 80% do total de N absorvido pela cultura do milho ocorrem nos primeiros 60 dias do ciclo, sendo posteriormente translocado dos órgãos de reserva (principalmente a folha) para os grãos (FALLAS et al., 2011). O sintoma típico de plantas deficientes em N é o amarelecimento das folhas mais velhas, seguidas de clorose

também deformações nas pontas das espigas (SUBEDI et al., 2009).

A planta absorve o N na forma de amônio (NH₃⁺) ou de nitrato (NO₃⁻). No entanto, estas formas representam menos de 2% do N total no solo (GARCIA, 2005). A maior parte do N absorvido pela planta é originada da mineralização do N orgânico ou da aplicação de N na forma mineral. Nos solos de regiões tropicais ou subtropicais, a maior parte de N mineral aplicado não é absorvida pela planta devido a perdas que ocorrem com o N no sistema. Um bom manejo da adubação nitrogenada no milho resulta em perdas de até 50% do N aplicado via fertilizante, sendo o restante perdido principalmente por lixiviação, erosão e volatilização (DUETE et al., 2008). Por isso, a busca de altas produtividades está atrelada ao aumento da demanda por fertilizantes nitrogenados, mas considerando o elevado custo do mesmo, tem-se direcionado pesquisas para o processo de fixação natural de N (SAIKIA e JAIN, 2007).

Entre as possíveis bactérias capazes de fixar N atmosférico, se encontram as bactérias do gênero *Azospirillum*, que são consideradas endofíticas facultativas (BALDANI et al., 1999). Além de colonizarem os hospedeiros, podem sobreviver no solo na forma de cistos até encontrar condições favoráveis, ou um hospedeiro

para colonizar (BASHAN e HOLGUIN, 1997). As bactérias do gênero *Azospirillum* podem atuar no crescimento vegetal por meio da indução de produção de auxinas como o ácido indol butílico (SPAEPEN e VANDERLEYDEN, 2015), aumento na atividade da redutase do NO_3^- nas raízes das plantas (HUNGRIA, 2011), fixação de N atmosférico (GARCIA de SALAMONE et al., 1996) e inclusive como agente de controle biológico de patógenos (RUSSO et al., 2008). Contudo, a principal barreira à utilização do *Azospirillum* na cultura do milho tem sido a inconsistência dos resultados de pesquisa, pois existem vários trabalhos afirmando a sua ação positiva na produtividade das culturas e outros que sugerem que a mesma não afeta à produtividade, não recomendando sua utilização para esse fim.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os componentes da produção e produtividade do milho em função de doses de *Azospirillum brasilense* associado ou não à aplicação de N em cobertura.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na safrinha, entre fevereiro a julho de 2015, em semeadura direta no município de Mbaracayú, Alto Paraná, Paraguai ($25^\circ 10' 04.07''$ S y $54^\circ 57' 07.00''$ W e altitude de 254 m). Os dados de precipitação pluviométrica e as temperaturas mínimas, máximas e médias mensais incidentes durante a realização do experimento são apresentados na Figura 1.

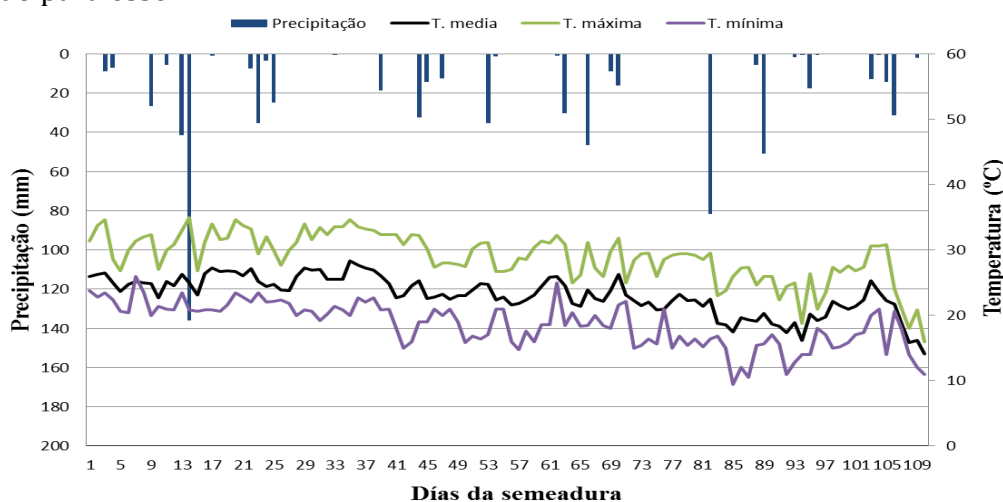


Figura 1. Precipitação pluviométrica, temperatura média, máxima e mínima diária no período de 10 de fevereiro/2015 a 30 de maio/2015. Mbaracayú, Paraguai. 2015.

O solo da área é classificado como Rhodic Paleudox (LÓPEZ et al., 1995) equivalente ao Latossolo Vermelho distróférico (EMBRAPA, 2006) de origem basáltica, com textura argilosa (58 g kg de argila, 23 g kg de silte e 19 g kg de areia. Antes da instalação do experimento, foi realizada a amostragem do solo, na camada de 0–0,2 m de

profundidade, para a determinação das características químicas (Tabela 1). A área onde foi instalado o experimento vem sendo manejado sob sistema de plantio direto a mais de 10 anos. No último ano antes da implantação do experimento foi semeado trigo no inverno e soja na safra de verão.

Tabela 1. Análise química do solo da área experimental, na camada de 0–0,2 m de profundidade. Mbaracayú, Paraguai. 2015

pH	P	MO	Al	Ca	Mg	K	CTC	H + V	Al	m
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³ 3.....				cmol _c	dm ⁻	%
4,7	17,5	28	0,2	4,4	2,0	0,22	12,7	6,2	51	3

Extratores: P e K = Mehlich-1; Ca, Mg e Al = KCl 1 mol L⁻¹; H + Al = estimado pelo pH-SMP.

O delineamento experimental empregado foi em blocos casualizados em esquema fatorial 2 × 4, com quatro repetições. O primeiro fator compreendeu as doses de adubo nitrogenado (testemunha sem N e 60 kg ha⁻¹ de N) e o segundo fator referente à inoculação das sementes com bactérias diazotróficas de *A. brasilense* (testemunha sem inoculação, ½, 1 e 2 vezes a dose de *A. brasilense*).

Os inoculantes foram fornecidos por uma empresa privada com concentração de bactérias de 5 × 10⁸ UFC mL⁻¹. A inoculação com as bactérias *A. brasilense* foi realizada imediatamente antes da semeadura, através da mistura das sementes ao inoculante em proporção de acordo a cada tratamento, sendo que a dose recomendada pelo fabricante é de 150 mL de produto para cada 20 kg de sementes.

A semeadura foi realizada com auxílio de matracas, no dia 10 de fevereiro de 2015, utilizando-se o híbrido simples Pioneer 30K73®. Cada unidade experimental constou de nove linhas com 4,0 m de comprimento, espaçadas entre si 0,45 m, sendo distribuídas três plantas por metro. Na adubação de semeadura foram aplicados 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅, 60 kg ha⁻¹ de K₂O (BRITOS et al., 2012; MORENO et al., 2012) e sem adubação nitrogenada em todos os tratamentos considerando que o milho foi semeado sobre restos culturais da soja. A dose de N, no tratamento com dose de 60 kg ha⁻¹ de N foi aplicada em cobertura, 26 dias após a semeadura, entre os estádios V4 e V6,

empregando como fonte de N a ureia (46% de N). Como fontes de P e K foram utilizadas o superfosfato triplo (46% de P₂O₅) e o cloreto de potássio (60% de K₂O), respectivamente.

Oito dias antes da implantação do experimento foi aplicada uma mistura de 1,3 kg ha⁻¹ do princípio ativo glifosato 75%, 500 mL ha⁻¹ de clethodim 24% e 300 mL ha⁻¹ de óleo vegetal para o controle de plantas espontâneas.

Após duas semanas da semeadura do milho foi realizada uma aplicação de 2 kg ha⁻¹ do herbicida Atrazina 90%. Realizaram-se também, uma aplicação de inseticida contendo Imidacloprid 60% + Lambdacialotrina 10% como ingrediente ativo (300 mL ha⁻¹) aos 15 dias após a semeadura, e do produto contendo Benzoato de emamectina 10% + Lufenuron 40%, como ingredientes ativos (0,05 kg ha⁻¹) em três oportunidades para o controle de lagarta do cartucho. Aos 60 dias após a semeadura foi aplicado fungicida a base de Azoxistrobin + Tebuconazole, na dose de 360 mL ha⁻¹, combinado com óleo vegetal 300 mL ha⁻¹ para o controle de doenças fúngicas.

Para as medições biométricas realizadas a campo (altura de planta aos 60 dias e na maturação fisiológica e diâmetro basal do colmo) foram medidas 10 plantas dentro da área útil por cada unidade experimental, sendo sempre realizadas as três leituras da mesma planta. As medições biométricas de altura de planta aos 60 dias, altura de planta na maturação fisiológica foram realizadas com um flexômetro

considerando a planta desde o caule até a parte mais alta da planta. O diâmetro basal do colmo foi realizado com auxílio de um paquímetro analógico medindo o diâmetro das dez plantas no segundo entre-nos a partir do solo.

A colheita do milho foi realizada manualmente, no dia 30 de maio de 2015, coletando-se todas as espigas da parcela útil constituída de cinco linhas centrais de 2 m cada uma (4,5 m²) para determinação da produtividade em kg ha⁻¹ após a correção da umidade para 13% (base úmida).

Para determinar o diâmetro e comprimento de espigas, foram tomadas de forma aleatória 10 espigas das colhidas medindo a parte central da espiga sem palha com ajuda de taquímetro analógico, e o comprimento com régua centimetrada. As mesmas 10 espigas foram pesadas em forma conjunta em uma balança de precisão (0,1 g) e o valor da massa das 10 espigas foi dividida por 10 e utilizada esse valor como massa de espiga de cada unidade experimental.

Mensurou-se a massa de mil grãos pela pesagem de cinco sub-amostras de 500 grãos por parcela, em balança de precisão (0,001 g), extrapolando-se para mil grãos e corrigindo-se para 13% de umidade. O peso hectolitro por unidade experimental foi determinado considerando a massa de um volume de 100 mL de grãos.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa ASSISTAT 7.7 beta (SILVA, 2016). Quando os efeitos foram significativos ($p < 0,05$), aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0,05$) para comparar as doses de N. Para comparar as doses de *A. brasilense* foram ajustadas equações de regressão. E análise de correlação simples de Pearson entre as variáveis avaliadas.

Resultados e Discussão

Não houve interação significativa entre a inoculação de *A. brasilense* e a adubação nitrogenada para nenhuma das características avaliadas, desta forma os resultados são apresentados independentemente para os fatores de adubação nitrogenada e inoculação.

A altura das plantas aos 60 dias foi maior (203 cm) do que sem aplicação de N em cobertura (195 cm) (Tabela 1). Era de se esperar maior altura de planta com a aplicação de N, pois o N atua no crescimento vegetativo, na divisão e a expansão celular e no processo fotossintético (MARSCHNER, 1995). Aos 110 dias a altura de planta foi similar entre o tratamento com e sem aplicação de N, indicando que a aplicação de N permite maior rapidez no crescimento inicial do milho. Este e outros estudos disponíveis na literatura evidenciam estreita relação do crescimento das plantas de milho com o suprimento de N (FERNANDES et al. 2005; SILVA et al., 2006; REPKE et al., 2013). A altura de planta não foi influenciada pela inoculação com *A. brasilense*, tanto na fase vegetativa como na reprodutiva (Tabela 1). Lana et al. (2012) e Dartora et al. (2013) igualmente não verificaram respostas da cultura do milho em relação a altura de planta com a inoculação com *Azospirillum* quando associada à adubação nitrogenada.

O diâmetro basal do colmo do milho aos 60 dias da semeadura foi maior com aplicação de N em cobertura (Tabela 1), mas não foi afetado pela aplicação de *A. brasilense*. O milho armazena grande parte das reservas de amido, que será utilizado posteriormente na produção de grãos, no colmo. Neste caso a aplicação de N proporcionou incremento no diâmetro basal do colmo em relação à testemunha de 5,7%. Isto significa que a planta terá mais reservas no momento de

enchimento de grãos. Kappes et al. (2013) também verificaram aumento no diâmetro do colmo de milho com a aplicação de 90 kg de N ha⁻¹. Por outro

lado, Dotto et al. (2010) e Farinelli e Lemos (2010) não verificaram efeito da inoculação ou de níveis de N sobre o diâmetro de colmo das plantas de milho.

Tabela 1. Efeito da aplicação de N e doses de *Azospirillum brasilense* na altura das plantas de milho aos 60 e 110 dias da semeadura e no diâmetro do colmo aos 60 dias da semeadura. Mbaracayú, Paraguai. 2015.

Tratamento	Altura aos 60 dias (cm)	Altura aos 110 dias (cm)	Diâmetro do colmo aos 60 dias (mm)
Doses de N (kg ha⁻¹)			
0 (zero)	195,4 b*	230,5 ^{ns}	24,7 b*
60	202,9 a	230,8	26,1 a
Dose de <i>Azospirillum</i>			
Sem inoculante	196,1 ^{ns}	230,1 ^{ns}	24,6 ^{ns}
½ da dose de inoculante	199,5	228,9	25,2
1 dose de inoculante	201,5	233,9	25,9
2 vezes a dose de inoculante	199,8	229,7	25,9
CV (%)	3,39	2,24	4,58

*: Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro; Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: Não significativo.

A aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura resultou em maior diâmetro

de espiga, comprimento de espiga e massa de espiga de milhos (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito da aplicação de N e doses de *Azospirillum brasilense* no diâmetro, comprimento e massa de espiga de milho. Mbaracayú, Paraguai. 2015.

Tratamentos	Diâmetro da espiga (cm)	Comprimento de espiga (cm)	Massa da espiga (g)
Doses de N (kg ha⁻¹)			
0 (zero)	4,46 b*	16,1 b*	163,0 b*
60	4,56 a	16,8 a	179,3 a
Dose de <i>Azospirillum</i>			
Sem inoculante	4,46 ¹ b*	16,1 ^{ns}	161,6 ^{ns}
½ da dose de inoculante	4,49 ab	16,4	168,3
1 dose de inoculante	4,55 ab	16,7	175,9
2 vezes a dose de inoculante	4,59 a	16,7	178,8
CV (%)	2,37	2,78	7,86

*: Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro; Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: Não significativo. ¹ Diâmetro de espiga = 0.0669 × dose de *A. brasiliense* + 4.464, R² = 0,95.

O diâmetro de espiga e o comprimento de espiga aumentaram em 2,2% e 4,3%, respectivamente por efeito da aplicação de N, similar ao encontrado por Kappes et al. (2009). Já a massa de espiga aumentou 16,3 g (~10%) com a

aplicação de aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura. O comprimento e a massa de espiga não foram alterados pela aplicação de *A. brasilense*. Contudo, o diâmetro de espiga aumentou linearmente com a dose de *A. brasilense*.

A aplicação de *A. brasilense* não influenciou significativamente na massa da espiga, embora exista uma tendência de aumento de massa com aplicação de maiores doses de inoculante. Aumento na massa de espiga possivelmente signifique maior produtividade de grãos de milho como demonstrada por Repke et al. (2013).

A massa de 1.000 grãos e a produtividade de grãos de milho aumentaram com aplicação de 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura (Tabela 3). A aplicação de N aumenta o teor de clorofila das folhas e, conseqüentemente, as taxas fotossintéticas da cultura do milho, permitindo-lhe produzir mais reservas que irão posteriormente favorecer o enchimento dos grãos (MOTA et al. 2015).

Era de se esperar que a aplicação de N fosse aumentar o peso hectolitro, pois o N mantém a planta fisiologicamente ativa por mais tempo, prolongando a duração do período de

armazenamento de carboidratos e posteriormente de enchimento de grãos, favorecendo a produção de grãos com maior massa (SILVA et al., 2005). Contudo, o peso hectolitro não foi influenciado pela aplicação de N.

A aplicação de *A. brasilense* não influenciou a produtividade de grãos, massa de mil grãos e peso hectolitro. Esses resultados concordam com os encontrados por Godoy et al. (2011) e Repke et al. (2013) que alertam que o uso de *A. brasilense* associado à fertilização nitrogenada não interfere no desenvolvimento de plantas e, portanto, não substitui o uso de fertilizantes nitrogenados e tampouco permite a redução da dose de N. Apesar disso, outros trabalhos tem encontrado aumento de produtividade de milho com o uso de *A. brasilense* (BARTCHECHEN et al., 2010), mas esse efeito não tem sido observado para o milho safrinha (KANEKO et al., 2016).

Tabela 3. Efeito da aplicação de N e doses de *Azospirillum brasilense* na produtividade de grãos, massa de 1000 grãos e peso hectolitro do milho. Mbaracayú, Paraguai. 2015

Tratamentos	Massa de 1000 grãos (g)	Peso hectolitro (g/100 cm ⁻³)	Produtividade de grãos (kg ha ⁻¹)
Doses de N (kg ha⁻¹)			
0 (zero)	272,8 b*	77,1 ^{ns}	7366 b*
60	288,1 a	76,7	8027 a
Dose de <i>Azospirillum</i>			
Sem inoculante	275,5 ^{ns}	77,0 ^{ns}	7515 ^{ns}
½ da dose de inoculante	274,5	77,1	7494
1 dose de inoculante	285,0	76,8	7789
2 vezes a dose de inoculante	286,8	76,7	7988
CV (%)	4,29	0,85	6,97

*: Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro; Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: Não significativo.

Andrade et al. (2016) constataram também que onde foi aplicado *A. brasilense* houve maior presença de ácido indolacético, substância que promove o crescimento radicular, favorecendo maior absorção de

nutrientes e água e obtiveram resposta sinérgica com a aplicação de N na produtividade do milho, recomendando sua aplicação. No presente experimento houve boa quantidade e distribuição das precipitações, acompanhada de

temperaturas adequadas para o desenvolvimento do milho (Figura 1), e isso pode ter mascarado o efeito positivo da aplicação de *A. brasilense*.

O rendimento de grãos de milho apresentou correlação positiva com altura de planta aos 60 dias, o diâmetro do colmo, o diâmetro da espiga, o comprimento da espiga, a massa da espiga e massa de mil grãos (Tabela 4). Repke et al. (2013) também observaram que espigas de maior diâmetro, comprimento e massa seca da espiga e

com maior massa de mil grãos resultam em maior rendimento de grãos. Contudo, não houve correlação entre a produtividade de grãos de milho e a altura final de planta e com o peso hectolitro. A relação do rendimento de grãos com a altura da planta aos 60 dias e o diâmetro do caule pode ser explicada pela capacidade que as plantas têm de acelerar seu crescimento quando há fornecimento adequado de N, neste caso via fertilização.

Tabela 4. Correlações simples de Pearson para produtividade de grãos versus altura de planta aos 60 dias (APSD), altura final de planta (AFP), diâmetro do colmo (DC), diâmetro da espiga (DE), comprimento da espiga (CE), Massa da espiga (ME), massa de mil grãos (MMG) peso hectolitro (PH). Mbaracayú, Paraguai. 2015.

Componentes de rendimento de grão								
	APSD	AFP	DC	DE	CE	ME	MMG	PH
Produtividade	0,561*	0,365 ^{ns}	0,786*	0,769*	0,770*	0,904*	0,879*	0,264 ^{ns}

*: Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro; ns: não significativo

Conclusões

A aplicação de *A. brasilense* aumentou o diâmetro de espiga, mas não afetou os demais componentes da produção, nem a produtividade de grãos de milho.

A aplicação de N em coberturou aumenta a altura de plantas aos 60 dias, o diâmetro do colmo, diâmetro da espiga, comprimento e massa de espigas, produtividade de grãos e a massa de mil grãos de milho.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao administrador da Fazenda Agro Fortuna S.A., pela concessão da área e suporte para realização do experimento no campo.

Referências

- ANDRADE, A.T.; CONDÉ, A.B.T.; COSTA, R.L.; POMELA, A.W.B.; SOARES, A.L.; MARTINS, F.A.D.; LIMA, W.T.; OLIVEIRA, C.B. Produtividade de milho em função da redução do nitrogênio e da utilização de *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 2, p. 229-239, 2016. Disponível em: http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/617/pdf_460 Acesso em: 16 de novembro de 2016.
- BALDANI, J.I.; AZEVEDO, M.S.; REIS, V.M.; TEIXEIRA, K.R.S.; OLIVARES, F.L.; GOI, S.R.; BALDANI, V.L.D.; DÖBEREINER, J. **Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: avanços e aplicações**. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G., eds. Inter-relação fertilidade, biologia do

solo e nutrição de plantas. Viçosa, SBCS/UFLA/DCS, 1999. p. 621-666.

BARTCHECHEN, A.; FIORI, C.C.L.; WATANABE, S.H.; GUARIDO, R.C. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasiliense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L). **Campo Digit@l**, Campo Mourão, v. 5, n. 1, p. 56-59, 2010. Disponível em: <http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital/article/view/982/353> Acesso em: 21 de dezembro de 2016.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum* - plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, n. 2, p. 103-121, 1997.

BRITOS, C.; CAUSARANO, M.H.J.; RASCHE A, J.W.; BARRETO R., U.F.; MENDOZA, D.F. Fertilización fosfatada de los principales cultivos bajo siembra directa mecanizada en la región Oriental del Paraguay, **Investigación Agraria**, San Lorenzo. v. 14, n. 2, p. 87-92, 2012. Disponível em: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S2305-06832012000200003&lng=pt&nrm=iso&tlng=es Acesso em: 20 de dezembro de 2016.

CÁMARA PARAGUAYA DE EXPORTADORES Y COMERCIALIZADORES DE CEREALES Y OLEAGINOSAS (CAPECO). **Área de siembra, producción y rendimiento de maíz**. 2016. Disponível em: <http://capeco.org.py/area-de-siembra-produccion-y-rendimiento> Acesso em: 28 de dezembro de 2016.

CIAMPITTI, I. A.; BOXLER, M.; GARCÍA, F. O. Nutrición de Maíz: Requerimientos y absorción de nutrientes. **Informaciones**

Agronómicas de Hispanoamérica. Ediciones IPNI. v. 48, p. 14 -18, 2010.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasiliense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.17, n.10, p.1023-1029, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v17n10/01.pdf> Acesso em: 16 de novembro de 2016.

DOTTO, A.P.; LANA, M.DdoC.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J.F. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, p. 376-382, 2010. Disponível em: http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=agraria_v5i3a898&path%5B%5D=768 Acesso em: 16 de novembro de 2016.

DUETE, R.R.C.; MURAOKA, T.; SILVA, E.C.da; TRIVELIN, P.C.O.; AMBROSANO, E.J. Manejo da adubação nitrogenada e utilização do nitrogênio (¹⁵N) pelo milho em Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 161-171. 2008. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832008000100016> Acesso em: 10 de setembro de 2016.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

FALLAS, R.; BERTSCH, F.; ECHANDI, D.; HENRÍQUEZ, C. Caracterización del desarrollo y absorción de nutrientes del híbrido de maíz HC-57. **Agronomía**

Costarricense, San José, CR, v. 35, n. 2, p. 33-47, 2011. Consultado em: <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/6677/6366> Acesso em: 18 de setembro de 2016.

FARINELLI, R.; LEMOS, L.B. Produtividade e eficiência agrônômica do milho em função da adubação nitrogenada e manejos do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 9, n. 2, p. 135-146, 2010. Consultado em: <http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v9n2p135-146> Acesso em: 10 de setembro de 2016.

FERNANDES, F.C.S.; BUZETTI, S.; ARF, O.; ANDRADE, J.A.C. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 2, p. 195-204, 2005. Consultado em: <http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/140/pdf/284> Acesso em: 13 de novembro de 2016.

GARCIA DE SALAMONE, I.E.; DOBEREINER, J.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by the ¹⁵N isotope dilution technique. **Biology and Fertility of Soils**, v. 23, n. 3, p. 249-256, 1996.

GARCÍA F. 2005. **Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo de maíz**. IPNI. 19 p.

GODOY, J.C.S.; WATANABE, S.H.; FIORI, C.C.L.; GUARIDO, R.C. Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio com e sem inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*. **Campo Digit@l**, v. 6, n. 1, p. 26-30, Campo Mourão, 2011. Disponível em: <http://revista.grupointegrado.br/revist>

<a/index.php/campodigital/article/view>
Acesso em: 23 de novembro de 2016.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo / Mariangela Hungria. – Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. – (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n. 325). Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/download/doc325.pdf> Acesso em: 23 de novembro de 2016.

KANEKO, F.H.; SABUNDJIAN, M.T.; ARF, O.; LEAL, A.J.R.; CARNEIRO, L.F.; PAULINO, H.B. Análise econômica do milho em função da inoculação com *Azospirillum*, fontes e doses de N em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 15, n. 2, p. 202 - 216, 2016. Disponível em: <http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/557/pdf/458> Acesso em: 13 de novembro de 2016.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M.V.; FERREIRA, J.P.; DAL BEM, E.A.; PORTUGAL, J.R.; GONÇALVES VILELA, R. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013. Disponível em: http://www.abms.org.br/29cn_milho/06190.pdf Acesso em: 23 de novembro de 2016.

KAPPES, C.; CARVALHO, M.A.C.; YAMASHITA, O.M.; SILVA, J.A.N. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 3, p. 251-259, 2009. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/pat/article>

[/view/5756/5369](#) Acesso em: 23 de novembro de 2016.

LANA, M.doC.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. H. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, p. 399-405, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rceres/v59n3/a16v59n3.pdf> Acesso em: 23 de novembro de 2016.

LÓPEZ, O.L.; ERICO, E.G.; LLAMAS, P.A.; MOLINAS, A.S.; FRANCO, E.S.; GARCIA, S.; RIOS, E.O. **Estudio de reconocimiento de suelos, capacidad de uso de la tierra y propuesta de ordenamiento territorial preliminar de la región oriental del Paraguay**. 1995. 246 p. Disponível em: <http://www.geologiadelparaguay.com/Estudio-de-Reconocimiento-de-Suelos-Regi%C3%B3n-Oriental-Paraguay.pdf> Acesso em: 3 de maio de 2015.

MARSCHNER H. 1995. **Mineral nutrition of higher plants**. 2 ed. Londres: Academic Press. 889 p.

MAG (Ministerio de Agricultura y Ganaderia, PY). 2008. Censo de cultivos temporales: maíz chipa y pichinga (en línea). Disponível em: <http://www.mag.gov.py/Censo/VOL%20III/CUADRO%2074.%20%20Maiz%20chipa%20y%20pichinga.pdf> Acesso em: 20 de fevereiro de 2016.

MORENO, H.; CAUSARANO, M.H.J.; RASCHE A, J.W.; BARRETO R., U.F.; MENDOZA, D.F. Fertilización potásica de los principales cultivos bajo siembra directa mecanizada en la región oriental del Paraguay, **Investigación Agraria**, San Lorenzo. Py, v. 14, n. 1, p. 41-49, 2012. Disponível em: <http://scielo.iics.una.py.php> Acesso em: 20 de dezembro de 2016.

MOTA, M.R.; SANGOI, L.; SCHENATTO, D.E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C.M.; DALL'IGNA, L. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, n. 2, p. 512-522, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v39n2/0100-0683-rbcs-39-2-0512.pdf> Acesso em: 23 de novembro de 2016.

REPKE, R.A.; CRUZ, S.J.S.; SILVA, C.J.; FIGUEIREDO, P.G.; BICUDO, S.J. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p. 214-226, 2013. Disponível em: http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/472/pdf_90 Acesso em: 23 de novembro de 2016.

RUSSO, A.; VETTORI, L.; FELICI, C.; FIASCHI, G.; MORINI, S.; TOFFANIN, A. Enhanced micropropagation response and biocontrol effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 on *Prunus cerasifera* L. clone Mr.S 2/5 plants. **Journal of Biotechnology**, v. 134, p. 312-319, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2008.01.020> Acesso em: 23 de novembro de 2016.

SAIKIA, S.P.; JAIN, V. Biological nitrogen fixation with non-legumes: an achievable target or a dogma? **Current Science**, v. 92, n. 3, p. 317-322, 2007. Disponível em: <http://14.139.56.90/bitstream/1/3788/1/S-Biological%20nitrogen.pdf> Acesso em: 13 de novembro de 2016.

SILVA, P.R.F.; STRIEDER, M.L.; COSER, R.P.S.; RAMBO, L.; SANGOI, L.;

ARGENTA, G.; FORSTHOFER, E.L.; SILVA, A.A. Grain yield and kernel protein content increases of maize hybrids with late nitrogen side-dresses. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 5, p. 487-92, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/sa/v62n5/25991.pdf> Acesso em: 10 de novembro de 2016.

SILVA, A. **Assistat Versão 7.6 beta**. DEAG-CTRN-UFCG. 2016. Disponível em <http://www.assistat.com> Acesso em: 5 de abril de 2016.

SILVA, E.C.da; MURAOKA, T.; BUZETTI, S.; VELOSO, M.E.da C.; TRIVELIN, P.C.O. Aproveitamento do nitrogênio (¹⁵N) da crotalária e do milho pelo milho sob plantio direto em Latossolo Vermelho de Cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 739-746. 2006. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000300004> Acesso em: 10 de novembro de 2016.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J. Auxin Signaling in *Azospirillum brasilense*: A Proteome Analysis. In: **Biological Nitrogen Fixation**, (ed F. J. de Bruijn), John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA. v. 2, p. 937-940, 2015.

SUBEDI, K.D.; MA, B.L. Assessment of some major yield-limiting factors on maize production in a humid temperate environment. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 21-26, 2009.