

Adubação nitrogenada associada à co-inoculação de *Azospirillum brasiliense* e *Herbaspirillum seropediceae* na cultura do trigo

Janaína Dartora¹; Deniele Marini²; Edilaine Della Valentina Gonçalves³; Vandeir Francisco Guimarães⁴

Resumo: A associação de plantas com bactérias promotoras do crescimento dos gêneros *Azospirillum* e *Herbaspirillum* surge como alternativa visando um sistema de produção mais sustentável. O objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento e a produtividade da cultura do trigo em resposta à co-inoculação de *A. brasiliense* e *H. seropediceae* em associação a adubação nitrogenada. O experimento foi conduzido em delineamento experimental de blocos ao acaso em esquema fatorial 4 x 5, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos da inoculação de sementes (testemunha, estirpe de *A. brasiliense* - Ab-V5, estirpe de *H. seropediceae* - SmR1 e co-inoculação Ab-V5 + SmR1) e doses de N (0, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ de N). Foram avaliados: altura da planta, massa seca da parte aérea, comprimento de espiga, número de espigas por metro linear, número de grãos por espiga, massa de 1.000 grãos e produtividade de grãos. A inoculação das estirpes de *A. brasiliense* e *H. seropediceae*, não influenciou as variáveis analisadas. A aplicação de doses crescentes de N em cobertura proporcionou incremento na massa seca da parte aérea, porém reduziu a massa de 1.000 grãos nas condições do estudo em virtude de estresse abiótico.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.; bactérias promotoras do crescimento; fito-hormônios.

Nitrogen fertilization associated to co-inoculation of *Azospirillum brasiliense* and *Herbaspirillum seropediceae* in the wheat

Abstract: The plant association with growth promoting bacteria of *Azospirillum* and *Herbaspirillum* genus is an alternative aimed at a more sustainable production system. The aim of this study was to evaluate the development and productivity of wheat in response to co-inoculation with *A. brasiliense* and *H. seropediceae* associated to N fertilizer. The experimental design was a randomized complete block with four replications and treatments arranged in a 4 x 5 factorial. The treatments consisted of inoculation of seeds (control, strain of *A. brasiliense* - Ab-V5, strain of *H. seropediceae* - SmR1 and combination SmR1+Ab-V5) and N levels (0, 30, 60, 90 and 120 kg N ha⁻¹). The plant height, shoot dry weight, ear length, number of spikes per meter, number of kernels per ear, mass of 1,000 grains and productivity were evaluated. The inoculation of the strains of *A. brasiliense* and *H. seropediceae* did not influence the analyzed variables. The application of increasing doses of N coverage provided increase in shoot dry mass, but reduced the mass of 1,000 grains in the study conditions due to abiotic stress.

Key words: *Triticum aestivum* L., growth promoting bacteria, phytohormones.

¹ Engenheira Agrônoma. Doutora em Agronomia (UNIOESTE). Agente de Ciência e Tecnologia, IAPAR, Pato Branco, PR. janaina_dartora@yahoo.com.br

² Engenheira Agrônoma. Mestre em Agronomia (UNIOESTE). denielemarini@yahoo.com.br

³ Bióloga. Doutoranda em Agronomia (UNIOESTE). edilainevaletina@gmail.com

⁴ Professor da UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, PR. vandeirfg@yahoo.com.br

Introdução

A cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) possui destacada importância econômica e social, abrangendo os segmentos da pesquisa, produção de grãos, industrialização e comercialização, gerando milhares de empregos em sua cadeia produtiva (EMBRAPA, 2010).

O nitrogênio (N) é o macroelemento mais limitante na produtividade da cultura, pois determina o número de perfilhos (SALA *et al.*, 2007), sendo o fertilizante nitrogenado o principal veículo de adição de N nos agrossistemas. No entanto, considerando-se o elevado custo ambiental e energético envolvido na fabricação de fertilizantes, a associação de plantas com bactérias promotoras do crescimento (BPC) surge como alternativa visando um sistema de produção mais sustentável. No Brasil, estudos pioneiros com BPC's associadas a gramíneas têm mostrado grande diversidade de microrganismos isolados de diversas espécies de plantas forrageiras e cereais, com destaque para as bactérias dos gêneros *Azospirillum* e *Herbaspirillum* (BALDANI *et al.*, 1997), sendo a co-inoculação de diferentes microrganismos uma alternativa de avanço nas pesquisas (BASHAN e HOLGUIN, 1997).

As BPC's estão associadas a um melhor aproveitamento dos recursos disponíveis no solo pela planta, pois além de possuírem a capacidade de realizar a fixação biológica de N (FBN) pela planta, estão associadas ao aumento da atividade da redutase do nitrato e à síntese de fito-hormônios (auxina, citocinina, giberelina), entre outros fatores (BALDANI e BALDANI, 2005). A combinação desses mecanismos beneficia o crescimento e desenvolvimento do vegetal, permitindo que a planta possa suprir de maneira mais eficiente as suas necessidades nutricionais, refletindo em aumento da produtividade das culturas (DÍAZ-ZORITA *et al.*, 2007).

Sala et al. (2007) verificaram que a inoculação de *A. brasiliense* proporcionou incremento de 14 a 20% na produtividade de genótipos de trigo em relação à testemunha, na presença de 120 kg ha⁻¹ N. Em trabalho realizado com a inoculação de diferentes estirpes de *A. brasiliense*, Hungria *et al.* (2010) observaram incremento de 9 a 18% na produtividade do trigo em relação ao controle sem inoculação.

Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento e a produtividade da cultura do trigo em resposta à co-inoculação de *A. brasiliense* e *H. seropediceae* em associação a adubação nitrogenada.

Material e métodos

O experimento foi desenvolvido na safra 2010 no município de Marechal Cândido Rondon – PR (54° 22' W; 24° 46' S e altitude de 420 m) com a cultivar de trigo CD 104. O

solo foi classificado como Latossolo Vermelho distróferrico com textura argilosa, cujas características químicas na camada 0-20 cm foram: pH (CaCl₃), 5,5; P, 18,34 mg dm⁻³; K, 0,2 cmol_c dm⁻³; matéria orgânica, 34,18 g dm⁻³; Al, 0,27 cmol_c dm⁻³; Ca, 2,92 cmol_c dm⁻³; Mg, 1,52 cmol_c dm⁻³; CTC 11,84 cmol_c dm⁻³; V% 49,5; H + A1 7,19 cmol_c dm⁻³.

O delineamento experimental empregado foi de blocos ao acaso em esquema fatorial 4 x 5, com quatro repetições, sendo o primeiro fator referente à inoculação das sementes com BPC's: testemunha (sem N e sem inoculação), estirpe de *A. brasiliense* (Ab-V5), estirpe de *H. seropediceae* (SmR1) e co-inoculação das estirpes (Ab-V5 + SmR1). O segundo fator, por sua vez, compreendeu as doses de adubação nitrogenada: 0, 30, 60, 90 e 120 kg ha⁻¹ de N.

Os inoculantes foram fornecidos pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), sendo preparados a partir de uma solução de bactérias pura na concentração de 1×10^9 UFC mL⁻¹. A inoculação com as BPCs foi realizada antes da semeadura, através da mistura das sementes ao inoculante em uma proporção de 2 mL de inoculante para 1.000 sementes sendo que, no caso da co-inoculação das estirpes, foi utilizada metade desta proporção de inoculante (1 mL) de cada estirpe.

A semeadura foi realizada manualmente no dia 21/03/10, sendo distribuídos na adubação de semeadura P₂O₅ e K₂O, conforme a recomendação para a cultura e 30 kg ha⁻¹ de N. O restante da dose de N, conforme os tratamentos estabelecidos, foi aplicada em cobertura no estádio de perfilhamento, sendo utilizada como fonte de N a ureia (46% de N). A parcela experimental foi composta por 10 linhas de 3 m de comprimento espaçadas entre si por 0,17 m. Os tratos fitossanitários foram realizados conforme a necessidade seguindo as recomendações para a cultura.

Nos estádios de emborrachamento e enchimento de grãos foram realizadas coletas de plantas para avaliação das variáveis biométricas. Em cada coleta, as plantas foram avaliadas no campo quanto à altura com auxílio de régua graduada sendo posteriormente levadas ao laboratório onde foram secas em estufa de circulação forçada de ar a $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 72 h, até atingir massa constante, para determinação da massa de matéria seca da parte aérea.

A colheita foi realizada manualmente no dia 15/07/10 sendo determinados os componentes da produção: comprimento de espiga, número de espigas por metro linear, número de grãos por espiga e massa de 1.000 grãos. A produtividade de grãos foi determinada após correção da umidade dos grãos para 13% (base úmida).

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2008) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para as respostas

das variáveis em função das doses de N, foi utilizada análise de regressão pelo teste t de Student.

Resultados e Discussão

A análise de variância revelou que não houve efeito significativo para a interação entre os fatores inoculação e adubação nitrogenada. Dessa forma, os resultados são apresentados independentemente para cada fator (inoculação e doses de N).

Inoculação

Não foi verificada influência da inoculação sobre a altura de planta, sendo observados valores médios de 51,73 e 72,23 cm no emborrachamento e enchimento de grãos, respectivamente (Tabela 1). Campos *et al.* (2000) também não verificaram resposta da inoculação com *Azospirillum* spp. para a altura de plantas de trigo.

Tabela 1 - Altura (ALT) e matéria seca da parte aérea (MSPA) de plantas de trigo, cultivar CD104, nos estádios do emborrachamento e enchimento de grãos, em função da inoculação com estirpes de *A. brasiliense* (AbV5) e *H. seropedicae* (SmR1) de forma isolada e combinada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2010.

Inoculação	ALT	MSPA	ALT	MSPA
	Emborrachamento		Enchimento grão	
	----cm----	----g/planta----	----cm----	----g/planta----
Testemunha	52,37	23,58	72,60	52,09
SmR1	52,22	22,64	73,40	46,25
AbV5	51,33	22,07	70,71	43,26
SmR1+AbV5	51,00	21,06	72,22	45,94
Média	51,73	22,34	72,23	46,88
C.V.(%)	7,28	28,60	5,09	25,19

Para a matéria seca da parte aérea também não foi observado efeito da inoculação, com valores médios de 22,34 e 46,88 g/planta nos estádios de emborrachamento e enchimento de grãos, respectivamente (Tabela 1). Didonet *et al.* (2000) relatam também que não houve efeito da inoculação de *Azospirillum* no acúmulo de massa seca na antese e na maturação fisiológica do trigo. Sala *et al.* (2007) avaliando diferentes genótipos de trigo inoculados com BPC's em associação com adubação nitrogenada, verificaram que a inoculação do isolado de *A. brasiliense*, na presença de 120 kg ha N, proporcionou maior acúmulo de massa seca da parte aérea no estádio de quatro folhas.

Não houve efeito da inoculação para os componentes de produção avaliados, porém, para produtividade, embora sem diferença estatística, observa-se que todos os tratamentos inoculados proporcionaram produtividade superior à testemunha, com incremento de até 900,9 kg ha⁻¹ (*A. brasiliense*), evidenciando o efeito benéfico da inoculação.

Tabela 2 - Comprimento de espiga (CE), número de espigas por metro linear (NE), número de grãos por espiga (NGE), massa de 1000 grãos (M1000) e produtividade (PROD) de plantas de trigo, cultivar CD104, em função da inoculação com estirpes de *A. brasiliense* (AbV5) e *H. seropedicae* (SmR1) de forma isolada e combinada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2010.

Inoculação	CE	NE	NGE	M1000	PROD
	cm			g	kg ha ⁻¹
Testemunha	8,05	12,75	32,10	31,21	3193,07
SmR1	7,91	12,60	32,65	31,72	3573,35
AbV5	8,07	13,11	32,65	32,54	4093,97
SmR1+AbV5	7,78	12,40	29,90	31,18	3204,27
C.V.(%)	8,27	9,15	14,19	11,83	33,95

Aumentos significativos na produtividade de grãos de trigo devido à associação de *Azospirillum* são descritos na literatura. Dalla Santa *et al.* (2008), avaliando a influência da inoculação com *Azospirillum sp.* em trigo, verificaram que a simples inoculação de sementes sem qualquer adição de N proporcionou incremento de 23,9% no rendimento de grãos de trigo e que a inoculação associada a 48 kg ha⁻¹ de N foi equivalente a obtida com 60 kg ha⁻¹ de N. Saubidet *et al.* (2002) observaram influência de *A. brasiliense* nos componentes de produção do trigo, com aumento na produtividade de grãos e na concentração de proteína nos grãos devido ao aumento na absorção de N inorgânico pelas raízes.

Os resultados positivos da associação com *Azospirillum spp.* têm sido relacionados a maior ramificação das raízes e à formação de pelos radiculares que contribuem para uma maior absorção de nutrientes e que resultam da produção de fito-hormônios, principalmente auxinas, pela bactéria a uma concentração suficiente para produzir as alterações morfológicas e fisiológicas nos tecidos (BASHAN e DE-BASHAN, 2010).

A variabilidade de respostas à inoculação com BPC's está relacionada à interação planta-bactéria, em função da especificidade bactéria-hospedeiro e da influência acentuada do ambiente sobre essa interação, já que a bactéria está associada livremente à planta, seja na rizosfera ou no interior dos tecidos, tornando-se muito vulnerável ao ambiente (GYANESHWAR *et al.*, 2002). Dessa forma, mesmo na presença de um genótipo promissor e de estirpes eficientes, caso as condições ambientais (temperatura, umidade, aeração, salinidade-alcalinidade etc.) não sejam favoráveis à sobrevivência e atividade bacteriana é provável que não ocorra respostas satisfatórias à inoculação (SALA *et al.*, 2007; BALDANI e BALDANI 2005; REIS *et al.*, 2000).

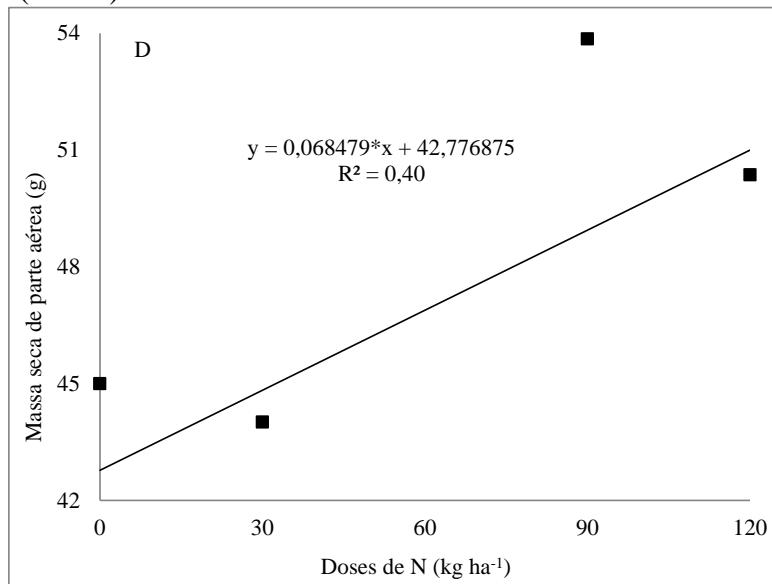
Neste estudo, a limitação na precipitação pluviométrica durante o desenvolvimento da cultura além de ter desfavorecido o desenvolvimento da planta, pode ter prejudicado o estabelecimento da bactéria na rizosfera, visto que sob altas temperaturas e escassa

precipitação a associação entre *A. brasiliense* e raízes de plantas de milho é desfavorecida (LOREDO-OSTI *et al.*, 2004). A influência do ambiente na interação planta-bactéria foi relatada por García-Olivares *et al.* (2012), que associaram a ausência de resposta do milho a inoculação às condições do campo experimental, as quais não teriam favorecido a aderência e colonização das raízes por *A. brasiliense* - essencial para o estabelecimento da associação com a planta hospedeira - em função do baixo teor de matéria orgânica do solo (menos de 1%), sendo as altas temperaturas (média máxima superior a 30 °C durante a floração) e a baixa precipitação (<100 mm) prejudiciais também ao estabelecimento da interação bactérias-raiz, segundo os autores.

Adubação nitrogenada

Na Figura 1 observa-se que houve efeito significativo das doses de N sobre a matéria seca da parte aérea no estádio de enchimento de grãos, com ajuste linear crescente ($p \leq 0,01$) dos dados em função das doses de N. Através do modelo obtido, observa-se que cada kg de N adicionado ao solo proporcionou um incremento de 0,068 g na matéria seca da parte aérea confirmado o efeito do N na promoção do crescimento vegetal.

Figura 1 - Massa de matéria seca de parte áerea no estádio do emborrachamento de plantas de trigo, cultivar CD104, em função da inoculação com estirpes de *A. brasiliense* (AbV5) e *H. seropediae* (SmR1) de forma isolada e combinada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2010.



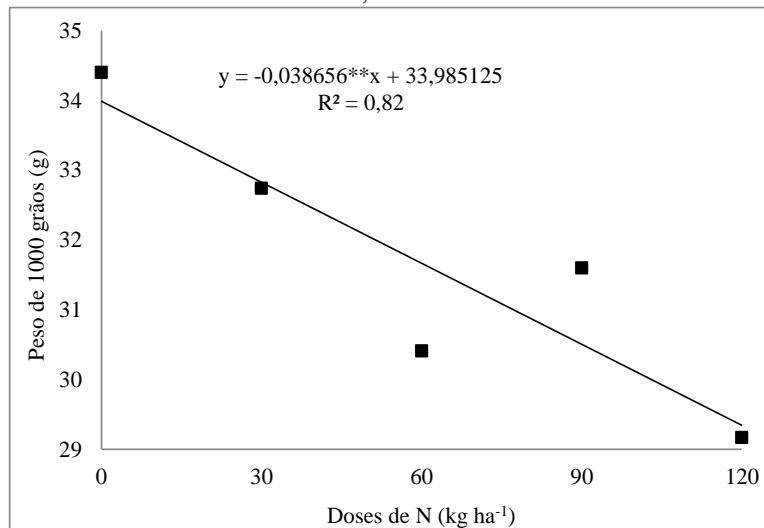
Segundo Gava *et al.* (2010), a biomassa seca vegetal é afetada pelo teor de N disponível, que é constituinte de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucléicos, fitocromos e da clorofila, sendo que o fornecimento de N em quantidades adequadas estimula o

desenvolvimento vegetativo e a expansão do sistema radicular da planta (RODRIGUES e COUTINHO, 2000).

A adubação nitrogenada não influenciou a produtividade da cultura, no entanto, diversos estudos demonstram a influência do N no incremento de variáveis produtivas da cultura do trigo. Didonet *et al.* (1996) verificaram que a cada kg de N aplicado obteve incremento na produção de 30,5 kg de grão para o tratamento que utilizou 60 kg N ha⁻¹ sem inoculação, com incremento ainda maior (51,5 kg de grãos para cada kg de N) quando a adubação nitrogenada foi associada a inoculação de *A. brasiliense*.

Na Figura 2 verifica-se a influência das doses de N sobre a massa de 1.000 grãos com ajuste linear decrescente ($p \leq 0,01$) em função da adubação nitrogenada, sendo observada redução de 0,0386 g na massa de 1.000 grãos para cada kg de N adicionado ao solo. Tal resultado é contrário a maior parte dos estudos em que têm sido observada resposta positiva da adubação nitrogenada sobre os componentes da produção, e pode estar relacionado ao estresse sofrido pela cultura em função da escassez hídrica durante o desenvolvimento da cultura.

Figura 2 - Peso de 1000 grãos de plantas de trigo, cultivar CD104, em função da inoculação com estírpes de *A. brasiliense* (AbV5) e *H. seropedae* (SmR1) de forma isolada e combinada. Marechal Cândido Rondon – PR, 2010.



Durante o enchimento de grãos, o N é mobilizado inicialmente das folhas e caules, de modo que os foto-assimilados produzidos durante essa fase são canalizados primariamente para as sementes em enchimento (SOUZA e FERNANDES, 2006). É possível que, nesta fase, o déficit hídrico tenha afetado o metabolismo da planta e o fechamento de estômatos, reduzindo a taxa fotossintética, a produção de foto-assimilados e a sua translocação para os

grãos, como também verificado para a cultura do milho (MAGALHÃES e DURÃES, 2006; CRUZ *et al.*, 2006). Além disso, o déficit hídrico altera o desenvolvimento foliar das plantas tanto pela redução no tamanho das mesmas, como também pela alteração do padrão de interceptação da radiação solar, através de modificações na exposição e duração da área foliar (SANTOS e CARLESSO, 1998).

O efeito negativo das doses de N sobre a massa de 1.000 grãos do trigo observado neste estudo evidencia a resposta das plantas ao estresse abiótico (déficit hídrico) durante seu desenvolvimento, pois o estado de estresse impõe a manifestação de diversos mecanismos no metabolismo vegetal. Algumas manifestações relacionadas às condições de estresse na planta podem ser representadas pelo aumento da respiração, redução da taxa fotossintética e do acúmulo de matéria seca, distúrbios de crescimento e senescência prematura de tecidos e órgãos vegetais. Dessa forma, o estresse impõe à planta um gasto energético extra, representado pelo custo metabólico despendido da biossíntese de compostos secundários e no desencadeamento das estratégias de adaptação, o qual deveria ser direcionado à produção de biomassa e à manifestação do potencial produtivo (FANCELLI, 2010).

Em função da influência dos fatores abióticos sobre a resposta do trigo à inoculação e a adubação nitrogenada, mais estudos são necessários visando explorar a interação destes mecanismos.

Conclusões

A inoculação das estirpes de *A. brasiliense* (Ab-V5) e *H. seropedicae* (SmR1), não influenciou as variáveis analisadas. A aplicação de doses crescentes de N (até 160 kg ha⁻¹ de N) em cobertura proporcionou incremento na massa seca da parte aérea, porém reduziu a massa de 1.000 grãos nas condições do estudo em virtude de estresse abiótico.

Referências

BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DOBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v.29, p.911-922, 1997.

BALDANI, J. I.; BALDANI, V.L.D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.77, n.3, p.549-579, 2005.

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

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment 2010. **Advances in Agronomy**, v.108, p.77-136, 2010.

CAMPOS, B.C. de; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante “Graminante” na cultura de milho. **Ciência Rural**, v.30, n.4, p.713-715, 2000.

CRUZ, J.C.; FILHO, I.A.P.; ALVARENGA, R.C.; NETO, M.M.G.; VIANA, J.H.M.; OLIVEIRA, M.F. de; SANTANA, D.P. **Manejo da cultura do Milho**, Circular Técnica 87, Sete Lagoas, MG, dez. 2006.

DALLA SANTA, O.R.; DALLA SANTA, H.S.; FERNÁNDEZ, R.; MICHELENA, G.; RONZELLI JÚNIOR, P.; SOCCOL, C.R. Influência da inoculação de *Azospirillum* sp. em trigo, cevada e aveia. **Ambiência**, v.4, n.2, p.197-207, 2008.

DÍAZ-ZORITA, M.; BALIÑA, R.M.; FERNÁNDEZ-CANIGIA, M.V.; PERTICARI, A. **Rendimiento de cultivo de trigo en la región pampeana inoculados con Azospirillum brasiliense**. Disponível em: <<http://www.engormix.com/MAngricultura/trigo/articulos/rendimiento-cultivo-trigo-region-t1511/998-p0.htm>>. Acesso em: 08 de maio de 2015.

DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O.; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.31, n.9, p.645-651, 1996.

DIDONET, A.D.; LIMA, O. dos S.; CANDATEN, A.A.; RODRIGUES, O. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.2, p.401-411, 2000.

EMBRAPA. **Informações técnicas para trigo e triticale – safra 2010**. Porto Alegre, RS: Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale: Fepagro; Veranópolis: ASAVER; Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2010. 176 p.

FANCELLI, A.L. **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho**. International Plant Nutrition Institute, p.1-16, set. 2010.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-42, 2008.

GARCÍA-OLIVARES, J.G.; MENDOZA-HERRERA, A.; MAYEK-PÉREZ, N. Effect of *Azospirillum brasiliense* on maize yield in northern Tamaulipas, México. **Universidad y Ciencia Trópico Húmedo**, v.28, n.1, p.79-84, 2012.

GAVA, G.J. de C. ; OLIVEIRA, M.W. de; SILVA, M. de A.; JERÔNIMO, E.M.; CRUZ, J.C. S.; TRIVELIN, P.C.O. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de ¹⁵N-uréia. **Semina**, v.31, n.4, p.851-862, 2010.

GYANESHWAR, P.; 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, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasiliense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v.331, p.413-425, 2010.

LOREDO, O.C.; LÓPEZ, I.R.; ESPINOSA-VICTORIA, D. Plant growth-promoting bacteria in association with graminaceous species: A Review. **Terra Latinoamericana**, v.22, n.2, p.225-239, 2004.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da Produção de Milho**. Circular Técnica Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, p. 3-10, 2006.

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

RODRIGUES, M.A; COUTINHO, J.F. Eficiência de utilização do azoto pelas plantas. **Edição: Instituto Politécnico de Bragança**, Bragança, Portugal, 2000.

SALA, V.M.R.; CARDOSO, E.J.B.N.; FREITAS, J.G.; SILVEIRA, A.P.D. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v.42, n.6, p.833-842, 2007.

SANTOS, R.F. CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

SAUBIDET, M.I.; FATTA, N.; BARNEIX, A.J. The effect of inoculation with *Azospirillum brasiliense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil**, v. 245, p.215–222, 2002.

SOUZA, S.R.; FERNANDES, M.S. Nitrogênio. In: EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: Princípios e perspectivas**. Londrina, PR, Editora Planta, 2006. cap. 9, p. 215-252.