

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE AGRONOMIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Microrganismos promotores do crescimento vegetal,  
inibidores de nitrificação e urease como estratégia para  
aumentar a eficiência do uso do N fertilizante em plantas  
de sorgo**

**Ricardo Cesário dos Santos**

**2018**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**MICRORGANISMOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO  
VEGETAL, INIBIDORES DE NITRIFICAÇÃO E UREASE  
COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA  
DO USO DO N FERTILIZANTE EM PLANTAS DE SORGO**

**Ricardo Cesário dos Santos**

*Sob a Orientação do Pesquisador*  
**Segundo Sacramento Urquiaga Caballero**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Fitotecnia**, no curso de Pós-graduação em Fitotecnia.

Seropédica, R J  
Agosto de 2018

S237m

Santos, Ricardo Cesário dos, 1990-  
Microrganismos promotores do crescimento vegetal,  
inibidores de nitrificação e urease como estratégia  
para aumentar a eficiência do uso do N fertilizante em  
plantas de sorgo / Ricardo Cesário dos Santos. - 2018.  
30 f.

Orientador: Segundo Urquiaga Sacramento  
Caballero.

Dissertação (Mestrado). – Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em  
Fitotecnia, 2018.

Bibliografia: f.22-30.

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**RICARDO CESÁRIO DOS SANTOS**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Fitotecnia** no curso de Pós-graduação em Fitotecnia, área de concentração em Agroecologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 08/08/2018

---

Segundo Sacramento Urquiaga. Ph. D. Embrapa Agrobiologia  
(Orientador)

---

Jorge Jacob Neto. Dr. UFRRJ

---

Márcio Martins dos Reis. Dr. Embrapa Agrobiologia

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Givaldo e Juraci por me ensinar qual  
caminho trilhar.*

*Dedico com amor.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar esta caminhada;

Aos meus pais e irmãos, que mesmo longe, transmitiram suas orações e sempre torceram por mim;

Aos amigos do grupo de Ciclagem de Nutrientes, Wadson, Pedro, Selenobaldo, Selmo, Lucero, por toda ajuda e convivência.

Aos analistas da EMBRAPA Agrobiologia, Andréia Loviane e em especial ao Renato Moutinho, pela a realização das análises realizadas nas plantas.

Aos laboratoristas da EMBRAPA Agrobiologia, Roberto Grégio, Ednelson e Altiberto pela realização das analise das plantas.

À Dr. Karla Campos e o Dr. Martcio Martins, por todos os ensinamentos, disponibilidade e principalmente pela ajuda durante o trabalho.

Aos amigos irmãos Dárcio, Maria, Marcelo e Tiago pelo apoio durante o Mestrado,

Ao Dr. Bruno Alves, pela oportunidade de treinamento em Iniciação Científica, acompanhamento durante o mestrado, paciência e disponibilidade durante a realização do trabalho;

Ao Dr. Segundo Urquiaga pelo incentivo e por permitir desenvolver o treinamento científico sob sua orientação.

Ao professor Jorge Jacob, pela participação na banca de defesa da dissertação e por todos os ensinamentos na graduação.

À Embrapa Agrobiologia e Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela capacitação e formação.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

## RESUMO GERAL

SANTOS, Ricardo Cesário dos. **Microrganismos promotores do crescimento vegetal, inibidores de nitrificação e urease como estratégia para aumentar a eficiência do uso do N fertilizante em plantas de sorgo**. 2018. 30f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

O uso de inibidores de volatilização de amônia e nitrificação provou ser bem-sucedido na redução das perdas de N após a aplicação de uréia nas culturas, que em combinação com a inoculação de sementes com bactérias promotoras de crescimento de raiz vegetal (PGPB) aumentaria a eficiência da fertilização. Esta hipótese foi testada neste estudo. Um experimento foi realizado na estação experimental da Embrapa Agrobiologia, localizada em Seropédica, no Rio de Janeiro. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos consistiram em diferentes estratégias de adubação nitrogenada: sem adição de N (T1); ureia (120 kg N ha<sup>-1</sup>) (T2); ureia (60 kg N ha<sup>-1</sup>) (T3); inoculação de sementes com as estirpes de *Azospirillum brasilense* ABV4 e ABV5 + uréia (60 kg N ha<sup>-1</sup>) (T4); ureia revestida (60 kg N ha<sup>-1</sup>) com NBPT (T5); e ureia revestida (60 kg N ha<sup>-1</sup>) com inoculação de sementes NBPT + *A. brasilense* ABV4 e ABV5 (T6). Cada parcela tinha 4 m de comprimento por 4 m de largura, com 0,50 m de espaço entre linhas. Na semeadura, as plantas foram fertilizadas com 80 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> como superfosfato simples, 40 kg de K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> como cloreto de potássio e 3 kg de micronutrientes ha<sup>-1</sup> como Cana Micros Plus®. A adubação da uréia foi dividida em duas parcelas, com 20 kg N ha<sup>-1</sup> na semeadura e 40 kg N ha<sup>-1</sup> como cobertura. As coletas para quantificação das emissões de N<sub>2</sub>O e NH<sub>3</sub> foram realizadas durante a condução do experimento em campo e os rendimentos de grãos e palha foram quantificados na colheita. Os resultados foram submetidos à ANOVA e médias significativamente diferentes foram comparadas pelo teste I.s.d. com p<0,05. Em relação às emissões de N<sub>2</sub>O, o uso de inibidor de nitrificação não mostrou diferenças estatísticas entre os tratamentos Ureia (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + DCD e a ureia pura (60 kg N ha<sup>-1</sup>) ou ureia pura (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + *A. brasilense*, já o tratamento com ureia + DCD + *Azospirillum* difertiu estatisticamente do tratamento ureia (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + DCD com uma redução de 45% nas emissões de N<sub>2</sub>O. A volatilização da amônia na ausência de inibidor foi de cerca de 10% do N adicionado, independentemente da dose de aplicação, mas quando presente, o inibidor reduziu pela metade as perdas de N. Não houve efeito da inoculação das sementes nas perdas por volatilização. A produção de grão foi afetada pelo uso de *Azospirillum* e ou *Azospirillum* + Inibidores com um incremento de 1,7% e 7,7% em relação ao tratamento com ureia pura (60 kg N ha<sup>-1</sup>), porém não foi possível observar diferenças significativas entre os respectivos tratamentos. Não foi possível verificar uma sinergia na eficiência do uso de fertilizantes ao combinar as tecnologias de inibidores de volatilização e nitrificação em conjunto com a inoculação de sementes com PGPB.

Palavras chaves: *Azospirillum*, Eficiência Agronômica; *Sorghum bicolor*.

## GENERAL ABSTRACT

SANTOS, Ricardo Cesário dos. **Plant growth promoting microorganisms, nitrification inhibitors and urease as a strategy to increase the efficiency of N fertilizer use in sorghum plants.** 2018. 30f. Dissertation (Master in Plant Science). Institute of Agronomy, Department of Plant Science, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

The use of ammonia volatilization and nitrification inhibitors proved to be successful in reducing N losses after application of urea to crops, which in combination with seed inoculation with plant growth promoting bacteria (PGPB) would increase fertilization efficiency. This hypothesis was tested in this study. An experiment was carried out at the experimental station of Embrapa Agrobiologia, located in Seropédica, Rio de Janeiro. A randomized block design with 5 treatments and 5 replications was adopted. The treatments were different N fertilization strategies as follows: no N addition (T1); urea (120 kg N ha<sup>-1</sup>) (T2); urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>) (T3); seed inoculation with *Azospirillum brasilense* ABV4 and ABV5 strains + urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>) (T4); coated urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>) with NBPT (T5); and coated urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>) with NBPT + seed inoculation with *A. brasilense* ABV4 and ABV5 (T6). Each plot was 4 m long by 4 m wide, with 0.50 m interrow space. At seeding, plants were fertilized with 80 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> as single superphosphate, 40 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> as potassium chloride, and 3 kg micronutrients ha<sup>-1</sup> as Cana Micros Plus®. Urea fertilization was split in two, with 20 kg N ha<sup>-1</sup> at sowing and 40 kg N ha<sup>-1</sup> as side-dressing. Grain yield and straw were quantified at harvesting. Results were submitted to ANOVA and significantly different means were separated by l.s.d. test at p<0.05. The use of nitrification inhibitor did not show statistical differences between treatments Urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + DCD and pure urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>) or pure urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + *A. brasilense*, the treatment with urea + DCD + *Azospirillum* differed statistically from the treatment urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + DCD with a 45% reduction in N<sub>2</sub>O emissions. Volatilization of ammonia in the absence of inhibitor was about 10% of the N added, regardless of the application dose, but when present, the inhibitor reduced N losses by half. There was no effect of seed inoculation on losses by volatilization. Grain production was affected by the use of *Azospirillum* and / or *Azospirillum* + Inhibitors with an increase of 1.7% and 7.7% in relation to treatment with pure urea (60 kg N ha<sup>-1</sup>), but it was not possible to observe differences between treatments. It was not possible to verify a synergy in the efficiency of the use of fertilizers when combining the technologies of inhibitors of volatilization and nitrification together with the inoculation of seeds with PGPB.

Keywords: *Azospirillum*, Agronomic Efficiency; *Sorghum bicolor*.

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Doses de N e suas respectivas marcações com $^{15}\text{N}$ em excesso.....	9
Tabela 2. Emissão acumulada de $\text{N}_2\text{O}$ da Ureia aplicada no sorgo e fator de emissão. Onde: N60= Ureia 60 kg ha <sup>-1</sup> ; N120= Ureia 120 kg ha <sup>-1</sup> Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+ Azospirillum.....	16
Tabela 3. Emissão acumulada de $\text{NH}_3$ da ureia aplicada no sorgo e % de N perdido do fertilizante aplicado como $\text{NH}_3$ . Onde: N60= Ureia 60 kg ha <sup>-1</sup> ; N120= Ureia 120 kg ha <sup>-1</sup> <sup>1</sup> Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+ Azospirillum. ....	18
Tabela 4. Total de Nitrogênio acumulado, produção de grãos, palha e eficiência no uso de nitrogênio (EUN). Onde: N60= Ureia 60 kg ha <sup>-1</sup> ; N120= Ureia 120 kg ha <sup>-1</sup> ; Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+Azospirillum.....	19

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Base metálica e câmara para coleta de N <sub>2</sub> O (A); Conjunto base, extensor e tampa no momento da coleta de N <sub>2</sub> O (B).....	11
Figura 2. Teor de Nitrato e Amônio do solo; Precipitação, temperatura média do ar e espaço poroso saturado com água (EPSA). Onde: N60= Ureia 60 kg ha <sup>-1</sup> ; N120= Ureia 120 kg ha <sup>-1</sup> Ino= Azospirillum; Ini= DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+ Azospirillum.....	13
Figura 3. Fluxos e emissão acumulada de N <sub>2</sub> O após aplicação da adubação nitrogenada (Semeadura e Cobertura). Onde: N60= Ureia 60 kg ha <sup>-1</sup> ; N120= Ureia 120 kg ha <sup>-1</sup> Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+ Azospirillum.....	14
Figura 4. Fluxo diário e Perda acumulada por volatilização de NH <sub>3</sub> após aplicação da adubação nitrogenada (Semeadura e Cobertura). Letras no final do período representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD (a=0,05). Médias seguidas por mesmas letras não diferem si.....	17

## SUMARIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1 Cultura do sorgo.....	3
2.2 Adubação Nitrogenada .....	3
2.3 Nitrogênio na cultura do sorgo .....	4
2.4 Perdas de N em sistemas de produção .....	5
2.5 Inibidores de nitrificação .....	6
2.6 Inibidores de urease .....	6
2.7 Bactérias diazotróficas .....	7
3. MATERIAL E MÉTODO .....	7
3.1 Volatilização de amônia.....	9
3.2 Emissões de N <sub>2</sub> O do solo.....	10
3.3 Análise dos dados .....	12
4. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	12
4.1 Temperatura, Precipitação, NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> e NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> no solo .....	12
4.2 Óxido nitroso (N <sub>2</sub> O).....	14
4.3 Volatilização de NH <sub>3</sub> .....	16
4.4 Produção de grão, eficiência no uso de nitrogênio e N derivado do fertilizante.	18
5. CONCLUSÕES .....	21
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22

## 1. INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é um dos nutrientes mais demandados pela maioria das plantas, e, por isso, devido à baixa fertilidade dos solos tropicais, é tipicamente um dos mais limitantes para a produção agrícola. O uso agrícola mundial de fertilizantes nitrogenados em 2015 foi superior a 109 milhões de toneladas e, de acordo com as previsões, esse montante aumentará nos próximos anos (FAOSTAT, 2017).

O uso de fertilizantes nitrogenados na agropecuária brasileira vem aumentando continuamente, sendo registrado um consumo interno de 4,37 milhões de toneladas em 2016, sendo a ureia a principal fonte, correspondendo a aproximadamente 55 % desse total (ALVES et al; 2017). Questões econômicas explicam a opção pela ureia. Em 2016, a tonelada de ureia foi comercializada a um preço médio de US\$ 423,56, enquanto que o de nitrato de amônio foi de US\$ 354,13 por tonelada (valor pago no Brasil, posto na fazenda; ICMS e frete inclusos - ANDA, 2016), implicando em um custo de US\$ 0,94 kg<sup>-1</sup> de N-ureia contra US\$ 1,04 kg<sup>-1</sup> de N-nitrato de amônio. Considerando-se o sulfato de amônio, o custo por kg N seria de US\$ 1,58. O frete é um dos componentes do preço que explicam as diferenças, pois uma tonelada de ureia contém 450 kg de N, 32 % mais do que uma tonelada de nitrato de amônio, e mais de duas vezes a quantidade de N em uma tonelada de sulfato de amônio.

O aumento no consumo de fertilizantes nitrogenados é uma indicação de maior acesso à tecnologia por parte dos produtores, e constitui uma das muitas explicações para o aumento de produtividade na agricultura brasileira. Deve-se destacar, no entanto, que a eficiência de uso do fertilizante nitrogenado pelas culturas é relativamente baixa, situando-se, tipicamente, entre 30 e 50% do N aplicado (HERRERA et al; 2016). Essa situação não somente significa um revés econômico, mas também um ponto negativo pelo lado ambiental.

As perdas de fertilizante nitrogenado do sistema, por lixiviação do nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ou em formas gasosas, incluindo amônia (NH<sub>3</sub>), óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) e nitrogênio molecular (N<sub>2</sub>) representam desperdício dos investimentos feitos pelos agricultores. Consequências ambientais incluem a eutrofização dos cursos de água (lixiviação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e deposição de NH<sub>3</sub>) e emissões de gases de efeito estufa (N<sub>2</sub>O) (FORSTER et al; 2007).

Tendo em conta as vantagens de melhor utilizar o fertilizante nitrogenado, tem aumentado o interesse nos chamados fertilizantes de eficiência aprimorada que visam retardar a liberação de formas minerais de N no solo, que podem ser perdidas. Estes incluem fertilizantes nitrogenados que contêm produtos químicos que inibem processos biológicos, incluindo hidrólise da ureia (inibidores da urease) ou oxidação do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (inibidores de nitrificação) (CHALK et al; 2015).

Outra forma de aumentar a eficiência no uso de N pela planta seria o uso de bactérias promotoras do crescimento vegetal (PGPB). As bactérias diazotróficas são microrganismos capazes de realizar a conversão enzimática do N<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub>. Segundo Evans e Burris (1992), as bactérias diazotróficas podem ser classificadas em três grupos: bactérias de vida livre, que fixam nitrogênio para o seu próprio uso, bactérias associativas, que contribuem para o crescimento da planta sem a formação de estruturas diferenciadas, não estabelecendo uma simbiose; bactérias simbióticas, que estabelecem uma interação muito estreita entre macro e o microsimbionte e, em alguns casos, são formadas estruturas diferenciadas denominadas nódulos.

*Azospirillum* é um gênero de bactéria que contribui para o crescimento de plantas (CASSÁN et al. 2014), com vários relatórios de estirpes mostrando diferentes

potenciais para beneficiar o crescimento de uma variedade de espécies de plantas, incluindo cereais importantes como o sorgo (*Sorghum bicolor*) (BASHAN e de-BASHAN 2010; HUNGRIA 2011; HUNGRIA et al. 2010; CASSÁN et al. 2015; PEREG et al. 2016). A promoção do crescimento de plantas por *Azospirillum* conta com uma série de mecanismos (BASHAN e DE-BASHAN, 2010), incluindo maior adesão de nutrientes e água (ARDAKANI et al. 2011), síntese de fitormônios, como as auxinas (SPAEPEN e VANDERLEYDEN 2015), indução de tolerância ao estresse de plantas e genes de defesa (FUKAMI et al. 2017) e fixação biológica de nitrogênio (FBN) (MARQUES et al. 2017). A inoculação das plantas com bactérias que produzem auxinas permite o crescimento diferenciado das raízes das plantas (DOBBELAIRE et al; 1999), permitindo que explore melhor o solo e tenha aumentada a sua capacidade de absorver nutrientes e água. Martins et al. (2017) mostraram que a inoculação de milho com as estirpes ABV5 e ABV6 de *Azospirillum brasilense* promoveu aumento na eficiência de uso de N do fertilizante nitrogenado.

Se o uso de inibidores reduz as possibilidades de perda de N do solo e a inoculação da planta com PGPB aumenta sua capacidade de absorver N do solo, a combinação das duas técnicas poderia amplificar a eficiência de uso de N pela planta. Com base nesta hipótese, o objetivo geral da tese foi avaliar o impacto do uso de PGPB em combinação com inibidores de nitrificação e de urease sobre a eficiência no uso de nitrogênio em plantas de sorgo. Além deste objetivo geral, também buscou-se avaliar a resposta em produtividade de grãos de sorgo frente a diferentes doses de N sob os tratamentos mencionados, assim como as emissões de N<sub>2</sub>O e as perdas de NH<sub>3</sub> do solo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cultura do sorgo

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é uma monocotiledônea da família Poaceae cultivado em diversas regiões do mundo. Algumas evidências apontam que seu centro de origem é na África ocidental, mais precisamente na Etiópia e Sudão, sendo aparentemente difundido pelo mundo através de nativos africanos, que pela ocasião do regime de escravidão do século XVI ao XIX foram levados para diversas partes do mundo, e consigo carregaram as sementes (MARTIN, 1975). Conforme GARCIA et al; (2010) a cultura do sorgo é produto da domesticação feita pelo homem, que através das gerações vem conseguindo suprir as necessidades dos animais assim como dos humanos. Apesar de ser uma cultura muito antiga, somente a partir do século XIX é que apresentou grande expansão em muitas regiões agrícolas do mundo. No Brasil, a cultura do sorgo começou a se desenvolver a partir da década de 1970 (RUAS et al; 2008), tornando-se uma das mais versáteis, em termos de possibilidades de utilização (RIBAS, 2008).

A cultura do sorgo se adapta a diversos ambientes, inclusive naqueles onde há condições de deficiência hídrica (MARIGUELE & SILVA 2002). Isto possibilita sua expansão em regiões com distribuição irregular de chuvas e, até mesmo, seu uso em sucessão a culturas de verão (COELHO et al. 2002). De acordo com ANTUNES (1979) e AGUIAR et al; (2011), o cultivo do sorgo é possível mesmo em regiões onde a precipitação pluvial anual não excede os 380 mm.

Além do seu potencial para alimentação humana, a utilização da cultura no país é praticamente toda para a alimentação animal, sendo que o sorgo granífero é utilizado na avicultura e suinocultura. Para a alimentação de bovinos, tanto de corte, como leiteiro, o emprego do sorgo na dieta é feito em forma de silagem ou pastoreio. As características agrônômicas apresentadas pela cultura do sorgo indicam a sua potencialidade como grande produtor de biomassa, sementes e folhas, elevada capacidade de rendimento de colmos, alta percentagem de extração de caldo, o qual possui alto conteúdo de sólidos solúveis totais, demonstrando ser uma grande alternativa, como fonte de alimentos para os bovinos de corte (SOUZA et al; 2008). O cultivo do sorgo se torna uma boa opção onde a produção de outras gramíneas é limitada, como afirma SILVA et al; (2005). Mesmo havendo várias opções de cultivo, o sorgo é considerado como ótima alternativa para uso na forma de grãos, forragem verde ou silagem. Dentre as vantagens do uso dessa cultura, destacam-se a alta produção de matéria seca em relação a outras gramíneas (CASELA et al; 1986), maior resistência aos períodos de seca pela melhor eficiência no uso da água (Monteiro et al; 2004), menor exigência em relação à fertilidade do solo, além da possível utilização da rebrota das plantas de sorgo (MELLO et al, 2003; PORTUGAL et al, 2003; SILVA et al; 2003; REZENDE et al, 2005).

### 2.2 Adubação Nitrogenada

A atmosfera terrestre é composta por aproximadamente 78 % de N, sendo este macronutriente fundamental para a vida na terra, pois é o nutriente mais requerido pelos vegetais para a metabolização de diversos processos que são essenciais para a sua sobrevivência (BASUCHAUDHURI, 2015; VANCE, 2001).

Entre os elementos minerais, o N é essencial para a vida das plantas por fazer parte da composição da maioria dos compostos orgânicos como aminoácidos, proteínas,

ácidos nucleicos, hormônios e clorofila (MALAVOLTA, 2006). Além disso, participa das principais reações bioquímicas, do metabolismo vegetal e tem importante participação nos ciclos biogeoquímicos, que são controlados por fatores físicos, químicos, biológicos e afetado por condições climáticas de difícil previsão e controle. Com isso, o N é considerado o macronutriente mineral mais importante na constituição química das espécies vegetais (RAIJ, 1991). A baixa disponibilidade deste elemento é limitante ao crescimento vegetal, sendo o constituinte obrigatório de toda matéria viva. Segundo BASUCHAUDHURI; (2015), é necessário a conversão do nitrogênio gasoso ( $N_2$ ), que é uma forma muito estável e indisponível para as plantas, em formas assimiláveis pelos organismos vivos, sendo esse elemento fundamental na produção de alimentos.

A grande maioria dos vegetais utiliza o N mineral presente no solo, salvo exceção as leguminosas que, em sua maioria, podem fixar o  $N_2$  atmosférico por meio da simbiose com bactérias. A probabilidade de que o solo não possa fornecer às plantas todos os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento faz da fertilização nitrogenada uma prática extremamente essencial para a agricultura moderna (IFA, 2013).

Uma grande parte do N aplicado no solo é perdido do sistema solo-planta, onde essas perdas podem ser de aproximadamente 50% a 70% como mostra dados experimentais (PEOPLES et al; 1995). O uso desordenado de fertilizantes nitrogenados podem causar danos ambientais, como a poluição de cursos d'água e posterior eutrofização, pois esses problemas geralmente estão associados ao uso intensivo destes fertilizantes, sendo que o N é facilmente perdido por lixiviação, volatilização, escoamento superficial ou até mesmo pelos processos de desnitrificação (GOOD et al; 2004).

### **2.3 Nitrogênio na cultura do sorgo**

A produção agrícola está diretamente relacionada com a disponibilidade dos nutrientes, que, em determinada condição, depende, além das formas químicas em que o mesmo se encontra no solo, da capacidade de absorção da cultura, do desenvolvimento do sistema radicular, do tempo de crescimento e, ainda, das condições climáticas e da disponibilidade de outros nutrientes.

O fato de o sorgo ser considerado uma cultura rústica não significa que a planta não precisa de nutrientes ou não responda à adubação. Dentre os principais fatores responsáveis pela baixa produtividade da cultura do sorgo, destacam-se as os baixos teores de N e de P dos solos (ZOBECK et al; 2000 e LOPES et al; 2004).

O N é o elemento mais requerido na cultura do sorgo. Para a produção de uma tonelada de grãos, a extração total de N feita pela planta de sorgo granífero foi de 17 kg em média (CANTARELLA et al; 1996). Estudos mostram que o N foi o que mais se acumula no sorgo (ALBUQUERQUE et al; 2013), sendo que as plantas que cresceram com sua falta foram as mais atingidas em relação ao acúmulo de biomassa (ZHAO et al; 2005; SANTI et al; 2006).

A recuperação do N proveniente do fertilizante pelas plantas é dependente de diversos fatores ligados às condições de manejo do solo, bem como fatores climáticos, podendo ser minimizada, a ponto de tornar a prática de adubação não efetiva em situações extremas. Parte do N aplicado na forma mineral é perdida principalmente através dos processos de nitrificação, desnitrificação, volatilização de  $NH_3$  e lixiviação de  $NO_3^-$ . Esses processos podem gerar, direta ou indiretamente,  $N_2O$ , um potente gás de efeito estufa (SANTOS, 2010).

## 2.4 Perdas de N em sistemas de produção

Nem sempre o N aplicado ao solo será totalmente absorvido pelas plantas. Parte dele poderá ser imobilizada por microrganismos ou, ainda, ser perdida do sistema solo por diversos mecanismos. Como importante meio de perda do N aplicado, tem-se a forma gasosa, ou seja,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}$  (BYRNES, 2000).

A perda de N por volatilização de Amônia ( $\text{NH}_3$ ) para a atmosfera é um dos principais fatores responsáveis pela baixa eficiência da ureia aplicada sobre a superfície do solo (BOUWMEESTER; VLEK; STUMPE; 1985). Este processo consiste na passagem da amônia presente no solo à atmosfera (DIEST, 1988).

As perdas de N na forma de  $\text{NH}_3$  por volatilização é proveniente da mineralização da matéria orgânica ou do fertilizante aplicado, sendo este fenômeno mais intensificado, mediante o aumento do pH do solo (MELO, 1978). O processo de volatilização de  $\text{NH}_3$  com a aplicação de ureia envolve, inicialmente, a hidrólise da fonte nitrogenada por meio da urease, resultando na formação de carbonato de amônio. A urease é uma enzima extracelular produzida por bactérias, actinomicetos e fungos do solo ou, ainda, de origem em restos vegetais. A ureia aplicada pode ser rapidamente hidrolisada em 2 ou 3 dias, dependendo da temperatura e umidade do solo, quantidade e forma pela qual a ureia é aplicada, pH do solo, presença de resíduos etc. Estes fatores influenciam diretamente a atividade dos microrganismos presentes no solo e na palha, promovendo grande variação na taxa de hidrólise para diferentes solos (REYNOLDS; WOLF; ARMBRUSTER, 1987).

Outra importante forma de perda de N é a lixiviação do  $\text{NO}_3^-$ , que é uma das formas mineral de N presente nos solos sem restrição de oxigênio. Devido ao predomínio de cargas negativas na camada arável, a sua adsorção eletrostática é insignificante. Desta forma, o  $\text{NO}_3^-$  permanece na solução do solo, o que favorece sua lixiviação no perfil para profundidades inexploradas pelas raízes (CERETTA e FRIES, 1997).

As perdas de N através da emissão de  $\text{N}_2\text{O}$  ocorrem através de processos biológicos de nitrificação e desnitrificação, e podem representar entre 0,3 a 3% do N aplicado como fertilizantes minerais, adubos orgânicos e resíduos culturais (IPCC, 2006). O processo de nitrificação é a oxidação biológica de formas reduzidas do N. Neste processo as bactérias quimioautotróficas oxidam o  $\text{NH}_4^+$  presente no solo produzindo  $\text{NO}_3^-$ . Esse processo ocorre em duas etapas: na primeira etapa, o  $\text{NH}_4^+$  é oxidado principalmente por bactérias do gênero *Nitrosomas* e *Nitrospira* a  $\text{NO}_2^-$  e, na segunda, o  $\text{NO}_2^-$  é oxidado a  $\text{NO}_3^-$  por bactérias do gênero *Nitrobacter*. A produção de  $\text{N}_2\text{O}$  por nitrificação está relacionada à redução de compostos intermediários entre o  $\text{NH}_4^+$  e o  $\text{NO}_2^-$  como o  $\text{NH}_2\text{OH}$  e o próprio  $\text{NO}_2^-$ , geralmente pelos próprios organismos que oxidam o  $\text{NH}_4^+$  (PAUL e CLARK, 1996; WRAGE et al; 2001). Acredita-se que o acúmulo de  $\text{NO}_2^-$  no solo seja um fator determinante da produção de  $\text{N}_2\text{O}$  por nitrificação, o que tem sido indicado como um mecanismo de defesa para minimizar o acúmulo intracelular de  $\text{NO}_2^-$  (RITCHIE e NICHOLAS, 1972).

Apesar da possível produção de  $\text{N}_2\text{O}$  por nitrificação, os picos de emissão de  $\text{N}_2\text{O}$  nos solos geralmente são atribuídos aos processos de desnitrificação (WRAGE et al; 2001; LEE et al; 2006). Neste processo, os óxidos de nitrogênio  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NO}_3^-$  são reduzidos a formas gasosas de nitrogênio ( $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  ou  $\text{N}_2$ ). Uma grande variedade de bactérias no solo é capaz de desnitrificar, sendo em sua grande maioria microrganismos anaeróbicos facultativos que oxidam formas orgânicas de carbono disponível no solo, a fim de gerar energia, e usam o  $\text{NO}_3^-$  como receptor final de elétrons na ausência de  $\text{O}_2$  (PAUL & CLARCK, 1996).

Tendo em vista a elevada mobilidade do N no solo, é fundamental um manejo adequado, tanto para a redução dos custos com a produção quanto para a minimização dos efeitos da poluição ambiental tais como: Tipos de fertilizantes nitrogenados, posição, manejo de preparo do solo, taxas de fertilização de N e substâncias que são capazes de retardar o processo de nitrificação e desnitrificação. A eficiência do uso do N é crucial para que ocorra um aumento de produtividade das culturas, podendo ser elevada quando o N é aplicado na época apropriada, e em doses adequadas, um manejo adequado de uso da água, controle de doenças, pragas e plantas daninhas, e um uso adequado do espaçamento entrelinhas e densidade de semeadura (EMBRAPA, 2004).

## 2.5 Inibidores de nitrificação

Os inibidores de nitrificação são substâncias que atuam bloqueando temporariamente a enzima responsável pela primeira etapa do processo de nitrificação, que consiste na oxidação de  $\text{NH}_4^+$  para  $\text{NO}_2^-$  (SINGH e VERMA, 2007). O seu uso junto aos fertilizantes nitrogenados vêm aumentando nos últimos anos com o objetivo de aumentar a eficiência dos mesmos através da redução da lixiviação do nitrato (VALLEJO et al; 2006), da emissão de  $\text{N}_2\text{O}$  (DI e CAMERON, 2012) e de aumentar a recuperação de N pelas plantas cultivadas (GONZATTO et al; 2016).

Além de mitigar o impacto ambiental, já que o  $\text{N}_2\text{O}$  é um potente gás de efeito estufa, se espera que o uso de inibidores possa incrementar a produção das culturas, como já verificado por ZAMAN et al; (2009) e KLEIN et al; (2011). Esse aspecto é fundamental para que a utilização dos inibidores seja viável não apenas ambientalmente, mas também economicamente.

Existe uma série de substâncias que possuem a capacidade de retardar o processo de nitrificação. Elas podem ser de origem natural, como os exsudatos radiculares de espécies forrageiras cultivadas (SUBBARAO et al; 2006) ou sintéticas, como a nitrapirina, a dicianodiamida (DCD) e mais recentemente o fosfato de 3,4-dimetil pirazole (DMPP) (VANDERZAAG et al; 2011).

## 2.6 Inibidores de urease

A ureia quando aplicada ao solo, está sujeita a ação da urease (MALHI et al., 2001), responsável hidrólise da ureia em  $\text{NH}_3$ . Essa reação é muito importante para a agricultura porque a  $\text{NH}_3$  produzida a partir da ureia, aplicada ao solo como fertilizante, pode ser convertida a  $\text{NH}_4^+$  que pode ser absorvido ou sofrer nitrificação e ser absorvido como  $\text{NO}_3^-$ . Os inibidores de urease são substâncias que reduzem a velocidade de conversão da ureia para  $\text{NH}_3$ , permitindo uma maior percolação da ureia e reduzindo a concentração de  $\text{NH}_3$  na superfície do solo e, conseqüentemente, as perdas por volatilização (MALHI et al; 2001).

Esses compostos apresentam estruturas análogas à molécula de ureia. Essa característica aparentemente possibilita o inibidor ligar-se aos sítios ativos da urease, ocupando esses locais por um longo período (DOMINGUEZ et al; 2008). Substâncias têm sido estudadas com o objetivo de inibir a atividade da enzima urease e reduzir a volatilização de amônia (KRAJEWSKA, 2009). Dentre essas Substâncias esta o NBPT (N-(n-butil) tiofosfórico triamida) que vem se tornado uma das substâncias mais promissoras para reduzir a volatilização de  $\text{NH}_3$  (GIAOCCHINE et al; 2002; CANTARELLA et al; 2008; CHIEN et al; 2009).

## 2.7 Bactérias diazotróficas

*Azospirillum spp.* ocorrem na zona temperada, mas são particularmente abundantes nos trópicos (Döbereiner and Pedrosa 1987). *Azospirillum sp.* é um dos melhores gêneros estudados de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas atualmente. As bactérias do gênero *Azospirillum* atuam diretamente na fixação biológica de nitrogênio (Ashraf et al; 2011) e são capazes de assimilar o N<sub>2</sub> atmosférico e convertê-lo à forma assimilável (NH<sub>3</sub>), cujo processo é denominado fixação biológica de nitrogênio (FBN). Na agricultura sustentável, a fixação biológica de N<sub>2</sub> é uma importante forma de entrada de nitrogênio no sistema solo-planta (Sharma et al; 2005). Além da FBN, este microrganismo é capaz de colonizar mais de cem espécies de plantas e melhora significativamente o seu crescimento, desenvolvimento e produtividade em condições de campo. (Bashan and de-Bashan, 2010). Um dos principais mecanismos propostos para o *Azospirillum sp.* para explicar a promoção do crescimento de plantas inoculadas, tem sido relacionado à sua capacidade de produzir e metabolizar vários fito hormônios e outras moléculas reguladoras do crescimento de plantas. (Tien et al; 1979).

Sob certas condições ambientais o gênero *Azospirillum* pode influenciar positivamente o crescimento da planta, o teor de nitrogênio e o rendimento de matéria seca da cultura (Steenhoudt & Vanderheyden, 2000). Este efeito estimulatório exercido por este gênero tem sido atribuído a diversos mecanismos, tais como a FBN e a produção de auxinas. Tem sido observado que, através da inoculação com *Azospirillum*, ocorre alteração morfológica na raiz, como o aumento das raízes laterais e de pelos radiculares. Estes fatores são atribuídos à produção de auxinas pelas bactérias (Steenhoudt & Vanderheyden, 2000). Cavallet et al. (2000) citam que as bactérias diazotróficas do gênero *Azospirillum*, quando associadas à rizosfera das gramíneas, podem contribuir com a nutrição nitrogenada dessas. Os resultados de 21 ensaios de campo com pastagens de alfafa realizados na região dos pampas da Argentina mostraram que a aplicação de tratamentos biológicos de sementes combinando *Sinorhizobium meliloti* e *A. Brasilense* favoreceu o estabelecimento de plantas e a produção de forragem. (Díaz-Zorita et al; 2012).

A interação entre plantas e microrganismos é determinada em parte pelo genótipo da planta, sendo observado que a mesma serve como abrigo proporcionando ambiente com umidade favorável e proteção contra dessecação, temperatura e estresse luminoso (REIS, 2005). A planta também disponibiliza compostos de carbono como glicose, frutose e sacarose que servem como alimento para estes microrganismos (NOGUEIRA et al; 2001).

## 3. MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido no ano agrícola 2017/2018 no Campo Experimental da Embrapa Agrobiologia, localizado no município de Seropédica, Rio de Janeiro com bioma de Mata Atlântica (22°74' latitude Sul e 43°67' longitude Oeste e uma altitude de 33m). De acordo com a classificação de Köppen, a região é classificada como Aw (clima tropical com um inverno seco e uma temperatura média no mês mais frio acima de 18°C). A média anual de chuva é de 1300 mm, tendo uma distribuição anual com concentrações entre os meses de dezembro e fevereiro e um período seco entre os meses de junho e agosto. Uma irrigação suplementar foi utilizada no experimento para manter a umidade do solo durante os estádios mais importantes do desenvolvimento da cultura.

O solo da área experimental na profundidade de 0-20 cm apresentou as seguintes características químicas: pH (H<sub>2</sub>O) = 5,8; MO = 14,14 g kg<sup>-1</sup>; Ca<sup>2+</sup> = 3,66 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>2+</sup> = 0,48 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; P = 4,56 mg dm<sup>-3</sup> e K<sup>+</sup> = 73,98 mg dm<sup>-3</sup>; Al<sup>3+</sup> = não detectado. E as seguintes características físicas: 597 g kg<sup>-1</sup> de areia, 315 g kg<sup>-1</sup> de argila, e 88 g kg<sup>-1</sup> de silte, sendo sua textura classificada como franco argilo arenosa.

A área foi arada e gradeada antes da semeadura do sorgo, que ocorreu em 14 de dezembro de 2017. Um híbrido (BRS 332) de sorgo foi utilizado, com média de produção de 5 a 8 ton ha<sup>-1</sup>, porte de 125 cm, sem tanino, panículas de coloração avermelhada e ciclo de 120 dias. Realizou-se uma adubação de plantio com superfosfato simples (50 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup>), cloreto de potássio (40 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>) e 3 kg ha<sup>-1</sup> de um formulado de micronutrientes, que foram aplicados 5 cm abaixo e 5 cm ao lado da localização da semente. Aos 30 dias após o plantio, uma adubação de cobertura com cloreto de potássio (40 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>) foi realizada.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos completos casualizados, com 6 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos foram: controle sem nitrogênio (T1); ureia na dose de 120 kg N ha<sup>-1</sup> (T2); ureia 60 kg N ha<sup>-1</sup> (T3); ureia (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + inoculante com *Azospirillum brasilense* estirpes ABV4 e ABV5 (T4); ureia (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + DCD (dicianodiamida) + NBPT (N-(n-butil) tiofosfórico triamida) (T5); e ureia (60 kg N ha<sup>-1</sup>) + *A. brasilense* estirpes ABV4 e ABV5 + DCD + NBPT (T5).

A fertilização nitrogenada foi parcelada, sendo 1/3 (40 kg N ha<sup>-1</sup> para a dose de 120 kg N e 20 kg N ha<sup>-1</sup> para a dose de 60 kg N) do fertilizante aplicado abaixo e ao lado da posição da semente no plantio, junto com o P e K. Os 2/3 restantes do fertilizante foram aplicados na superfície aos 30 DAS (Estádio V5-V6) em uma faixa de 5 cm de largura à 15 cm de distância da linha de plantio. Cada parcela tinha 4 m de comprimento por 4 m (8 linhas de plantas) de largura. Com o intuito de evitar efeito de bordadura, 50 cm da extremidade da parcela e as 4 linhas externas (duas de cada lado da parcela) foram evitadas durante a amostragem.

As estirpes de *Azospirillum* utilizadas fazem parte da Coleção de microorganismos da Embrapa Agrobiologia. As estirpes selecionadas ABV5 e ABV6 de *A. brasilense* foram crescidas em uma formulação líquida para a obtenção do inoculante, aplicado na dose de 10 mL em 300 g de sementes. Uma solução de sacarose 1% foi adicionada ao inoculante e misturada junto às sementes em uma sacola plástica e deixada à sobra para secar por aproximadamente 20 min.

O inibidor de nitrificação dicianodiamida (DCD) foi adicionado em uma dose de 35,9 g kg<sup>-1</sup> de uréia, ou mais precisamente, adicionaram-se 67g de DCD a 1.867 g ureia em um saco plástico resistente. Posteriormente, a ureia foi agitada manualmente durante 3 min para garantir uma aderência homogênea do DCD aos grânulos da ureia, umedecendo-se a mistura com água (1,5 g kg<sup>-1</sup> ureia). O inibidor de urease NBPT (N-(n-butil) tiofosfórico triamida) foi misturado junto à uréia na dose de 0,530 g por kg<sup>-1</sup> ureia. Para o fornecimento do NBPT, uma solução contendo 20% do ingrediente ativo foi utilizada (Agrotain, Koch Agronomic Services, St. Louis, MO, USA). O preparo foi efetuado com a pesagem do NBPT seguindo o mesmo procedimento usado no DCD.

Para o estudo de recuperação do fertilizante nitrogenado, utilizou-se a técnica do traçador <sup>15</sup>N em microparcels. Duas microparcels foram demarcadas em cada parcela, cada uma com 2 linhas de plantio divididas na metade, deixando-se uma área útil de 3 m<sup>2</sup> cada. Em cada microparcela, utilizou-se ureia marcada com <sup>15</sup>N em substituição a ureia comum de acordo com o plano de aplicação do fertilizante. A primeira microparcela de cada parcela recebeu ureia-<sup>15</sup>N durante a semeadura e ureia comum no estágio V5-V6, e a segunda microparcela, recebeu ureia comum durante a semeadura e

ureia-<sup>15</sup>N no estágio V5-V6. Em cada microparcela, a ureia-<sup>15</sup>N utilizada tinha um enriquecimento diferente para cada dose aplicada (Tabela 1).

**Tabela 1.** Doses de N e suas respectivas marcações com <sup>15</sup>N em excesso.

Tratamento	Dose de N kg ha <sup>-1</sup>		Marcação <sup>15</sup> N excesso	
	Semeadura	V5-V6	Semeadura	V5-V6
N60	20 kg	40 kg	5 %	2,5 %
N60+Ini	20 kg	40 kg	5 %	2,5 %
N60+Ino	20 kg	40 kg	5 %	2,5 %
N60+Ini+Ino	20 kg	40 kg	5 %	2,5 %
N 120	40 kg	80 kg	2,5 %	1,25 %

O mesmo procedimento utilizado no revestimento da ureia com os inibidores foi utilizado com a ureia enriquecida com <sup>15</sup>N.

A colheita do sorgo foi realizada aos 103 dias após a semeadura, 14 plantas correspondentes a 1m<sup>2</sup> de área coletada em cada microparcela. Os grãos dessas plantas foram separados e pesados. O material restante da planta (palha + ráquis) também foi pesado e picado com o auxílio de uma máquina trituradora para forrageiras. Subamostras de grãos e palha + ráquis foram secadas em estufas de ar forçado à 65°C durante 48h, repesadas e moídas (Moinho tipo Wiley com peneira de 2 mm). O material moído foi subamostrado para ser pulverizado em moinho de rolos metálicos (Arnold e Schepers, 2004) e analisado N total e <sup>15</sup>N como descrito por Ramos et al. (2001). O cálculo do N na planta derivado do fertilizante em Kg ha<sup>-1</sup> foi realizado seguindo os critérios estabelecidos pela IAEA (2001).

### 3.1 Volatilização de amônia

Após aplicação do fertilizante-N, as parcelas receberam câmaras semiabertas para mensuração da volatilização de NH<sub>3</sub>. A descrição e validação desta câmara usando técnicas com <sup>15</sup>N foram apresentadas em estudos conduzidos por ARAÚJO et al. (2009) e JANTALIA et al. (2012). Brevemente, a câmara consiste em uma garrafa transparente de polietileno tereftalato (PET) com o fundo removido e posteriormente fixado no topo da garrafa. A área coberta pela câmara para captura de NH<sub>3</sub> é de 78,5 cm<sup>2</sup> (10 cm de diâmetro). No interior da câmara, havia um fio metálico com 25 cm de comprimento usado para sustentar uma tira de espuma (2,5 cm × 25 cm, 3 mm de espessura) embebida em uma solução ácida [1 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 2% (v/v) glicerina] e um pote plástico (60 mL) contendo a solução de ácido para manter a tira úmida durante o período de amostragem. Uma câmara foi instalada em cada parcela e foi instalada de forma a cobrir a faixa de fertilizante e estava localizada a aproximadamente 5 mm acima da superfície do solo. Para garantir a homogeneidade da aplicação do fertilizante onde estava localizada a câmara, uma faixa de 60 cm de comprimento foi reservada para receber uma quantidade correspondente de fertilizante, que foi distribuída cuidadosamente para garantir a uniformidade dos grânulos na superfície do solo.

As medidas de volatilização de  $\text{NH}_3$  foram realizadas 5 vezes após a fertilização de semeadura e 6 vezes após a fertilização de cobertura (Estádio V5-V6). A coleta de espuma foi realizada a cada 2 dias durante os primeiros 7 dias e posteriormente a cada 7 dias até a adubação de cobertura (V5-V6). Após a adubação de cobertura, a coleta de espuma foi realizada com uma maior frequência nos primeiros 10 dias e sendo mais espaçadas até o final do período, totalizando 11 coletas em 55 dias. As câmaras foram trocadas diariamente para posições diferentes usando três suportes pré-instalados feitos de hastes de arame de 4,5 mm de diâmetro inseridos a 15 cm de profundidade no solo, um procedimento delineado previamente por JANTALIA et al. (2012). Estes suportes foram instalados nos 60 cm de comprimento da faixa de fertilização ou em um lugar correspondente nas parcelas sem fertilização nitrogenada. A realocação de posição foi realizada para minimizar os efeitos pela prolongação da câmara na superfície do solo próxima a câmara, como interceptação da chuva ou evaporação da água.

As espumas coletadas foram levadas ao laboratório, onde foram transferidas para frascos de Erlenmeyer enxaguando suas paredes com 40 mL de água deionizada. Os Erlenmeyers foram postos para agitar por 15 min a 220 rpm em um agitador horizontal. O conteúdo do Erlenmeyer foi devolvido para os potes plásticos, dos quais uma alíquota de 2 mL foi retirada para quantificar o N amoniacal pelo método de colorimetria, utilizando a reação de Berthelot modificada, como descrito por Alves et al. (2017).

### **3.2 Emissões de $\text{N}_2\text{O}$ do solo**

Os fluxos de  $\text{N}_2\text{O}$  foram mensurados usando câmaras estáticas fechadas retangulares (ALVES et al; 2012; MARTINS et al; 2015). Cada parcela recebeu uma câmara que foi centralizada longitudinalmente cobrindo a faixa que recebeu fertilizante. As câmaras utilizadas na mensuração dos fluxos de  $\text{N}_2\text{O}$  na adubação de plantio foram compostas por duas partes (topo e base), que eram acopladas para medir o acúmulo de  $\text{N}_2\text{O}$  do solo. A parte inferior, ou base da câmara, consistia de uma caixa metálica retangular (50 cm  $\times$  70 cm) vasada, com paredes de 7,5 cm de altura, tendo uma calha (2 cm largura  $\times$  2 cm altura) em todo o perímetro superior. As bases foram inseridas no solo de forma que somente a calha ficasse aparente. A parte superior, ou topo da câmara, consistia em uma caixa metálica retangular de 50 x 70 cm e 25 cm de altura, equipada com dispositivo de 3 vias conectado a uma extensão de 4 vias para retirar amostras de diferentes posições dentro do espaço interno da câmara, após o acoplamento do topo com a base (Figura 1). Para avaliar as emissões de  $\text{N}_2\text{O}$  do solo após a adubação de cobertura com as plantas maiores, um extensor com 40 cm de altura foi colocado entre a base e o topo. O extensor metálico era retangular de 40 $\times$ 60 cm, vasado, também contendo uma calha (2 cm largura $\times$ 2 cm altura) no perímetro superior. Para esta câmara, o topo consistia em uma bandeja plástica retangular de 40 $\times$ 60 cm e 10 cm de altura seguindo o mesmo modelo de dispositivo utilizado nas câmaras metálicas. Antes de acoplar as partes da câmara para a amostragem do  $\text{N}_2\text{O}$ , as calhas eram preenchidas com água para selar o sistema.



**Figura 1.** Base metálica e câmara para coleta de  $N_2O$  (A); Conjunto base, extensor e tampa no momento da coleta de  $N_2O$  (B).

O tempo de amostragem foi fixado em 60 min, uma amostra era tirada assim que as partes superior e inferior eram acopladas e outras 3 amostras eram retiradas depois de 20, 40 e 60 min de incubação.

As amostragens dos fluxos de  $N_2O$  do solo foram realizadas no período da manhã entre 8h e 10h para melhor representar os fluxos médios diários (Alves et al. 2012). Após aplicação dos fertilizantes, os fluxos de  $N_2O$  foram avaliados diariamente durante os primeiros 10 dias e menos frequentemente até o fim do período de amostragem, totalizando 30 amostragens.

Um volume de 40 mL de ar acumulado no espaço interno de cada câmara foi amostrado utilizando seringas de 60 mL. Após as amostragens, as seringas foram acopladas a uma bomba de vácuo sendo transferido 30 mL da amostra para frascos cromatográficos de 20 mL. Um volume de 10 mL era descartado inicialmente purgando o sistema de vácuo.

As análises de concentração de  $N_2O$  foram realizadas usando um cromatógrafo de gás equipado com um detector de captura de elétrons e um sistema back-flush

(JANTALIA et al; 2008). Os fluxos de  $\text{N}_2\text{O}$  ( $\mu\text{g N}_2\text{O m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ) foram calculados de acordo com a equação descrita por VAN DER WEERDEN et al. (2016).

Durante o experimento, a precipitação diária foi medida com o auxílio de um pluviômetro instalado na área experimental. No momento das coletas das amostras de gás, as temperaturas de ar dentro e fora da câmara eram medidas. Adicionalmente, amostras de solo foram coletadas (0-10 cm de profundidade) para avaliação da umidade do solo como descrito por MARTINS et al. (2017). Amostras de solo (0-10 cm de profundidade) foram realizadas 20 vezes durante o experimento para avaliação do N mineral do solo, sendo realizadas com mais frequência a partir dos 40 DAS (a cada 4 dias). Uma amostra de solo foi coletada de cada parcela e foi congelada em seguida para posterior análise de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$ . Essas análises foram realizadas como descrito por ALVES et al. (2017).

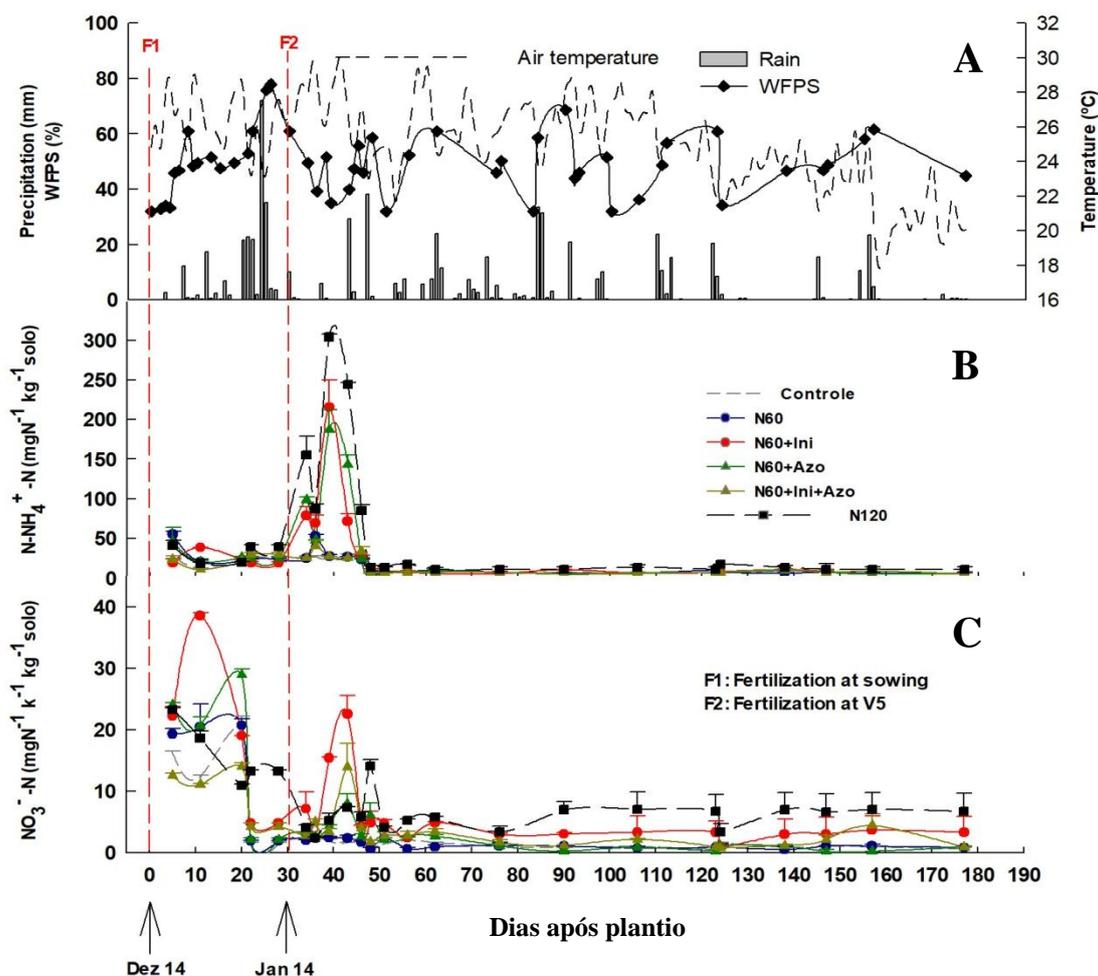
### **3.3 Análise dos dados**

O teor de umidade do grão foi ajustado para  $130 \text{ g kg}^{-1}$  antes de realizar as análises estatísticas. Os dados de volatilização de amônia ( $\text{NH}_3$ ), matéria seca, absorção de N e recuperação de N-ureia foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias dos tratamentos foram comparadas usando o teste de Fisher LSD ( $p = 0,05$ ). A ANOVA foi realizada depois de ter se determinado a normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (Teste de Bartlett) dos dados. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software R (R Development Core Team, 2017).

## **4. RESULTADO E DISCUSSÃO**

### **4.1 Temperatura, Precipitação, $\text{NH}_4^+$ e $\text{NO}_3^-$ no solo**

Os dados climáticos e teores de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  que foram coletados durante o período do experimento estão apresentados na (Figura 2). O acumulado de chuva no período de amostragem (177 dias) de  $\text{N}_2\text{O}$  foi de 382 mm. O uso de irrigação só foi necessário nos primeiros 10 dias após o plantio, sendo realizada apenas 4 irrigações que somaram 40 mm de água, um vez que só foi utilizado tal prática para garantir o estabelecimento da cultura no campo. As precipitações se concentraram nos períodos de 20 e 25 dias após o plantio (DAP) ocorrendo precipitações perto dos 80 mm, após esse período, os volumes de chuva não ultrapassaram os 30 mm. A temperatura média do ar ficou entre 18 e 31 °, as maiores temperaturas foram registradas entre o 30 e o 41 DAP. Os valores de espaço poroso preenchido por água (EPSA) variaram entre 32% e 77%, mostrando períodos alternados de tempo úmido e seco, os maiores valores 75% e 77% ocorrendo no 25 e 26 DAP estes valores estão associados ao período de maior precipitação. Após os 160 DAP, os valores de EPSA não ultrapassaram 50%. Os teores de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  serão úteis para ajudar a compreender a dinâmica do N e sua relação com as emissões de  $\text{N}_2\text{O}$  e  $\text{NH}_3$ .

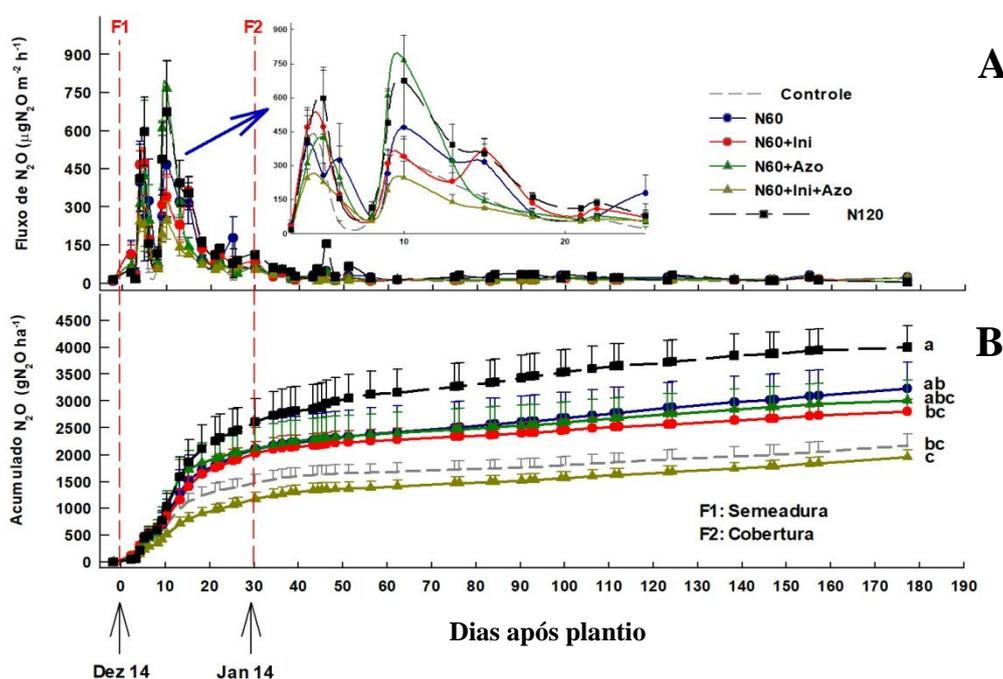


**Figura 2.** Teor de Nitrito e Amônio do solo; Precipitação, temperatura média do ar e espaço poroso saturado com água (EPSA). Onde: N60= Ureia 60 kg ha<sup>-1</sup>; N120= Ureia 120 kg ha<sup>-1</sup> Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+ Azospirillum.

Os teores de  $\text{NH}_4^+$  nos primeiros 30 dias ficaram abaixo dos 50 mg N Kg<sup>-1</sup> de solo e aos 5 DAP já foi possível observar um efeito do inibidor de urease ( $\alpha = 0.05$ ) no conteúdo de  $\text{NH}_4^+$  no solo, os maiores picos de  $\text{NH}_4^+$  no solo foram registrados 34 DAP, neste período, os valores de  $\text{NH}_4^+$  no solo chegaram próximo a 350 mg N kg<sup>-1</sup> solo e neste mesmo período é possível observar diferenças significativas entre os tratamentos, porém não é possível observar o efeito do inibidor de urease ( $\alpha = 0.05$ ), após 48 DAP não foi possível observar diferenças entre os tratamentos ( $\alpha = 0.05$ ). Os teores de  $\text{NO}_3^-$  no solo aos 4 DAP ficaram entre 10 e 40 mgN kg<sup>-1</sup> solo neste período foi possível observar diferenças entre os tratamentos ( $\alpha = 0.05$ ), neste momento já foi possível observar o efeito do inibidor de nitrificação no tratamento N60+Ini+Azo, após 20 DAP os teores de  $\text{NO}_3^-$  decrescem para menos de 5 mgN kg<sup>-1</sup> solo e neste momento ainda é possível detectar diferenças entre os tratamentos ( $\alpha = 0.05$ ). Aos 40 DAP os valores de  $\text{NO}_3^-$  no solo voltam a subir chegando aos 23 mgN kg<sup>-1</sup> solo e logo em seguida aos 52 DAP tem uma redução ficando novamente abaixo dos 5 mgN kg<sup>-1</sup> solo.

## 4.2 Óxido nitroso (N<sub>2</sub>O)

As emissões de N<sub>2</sub>O observadas no início do experimento aos 2 dias após o plantio (DAP) não permitiram detectar redução ( $p > 0,05$ ) nos tratamentos com uso do DCD como inibidor de nitrificação, além de terem sido bem elevados. Essa emissão pode estar relacionada com a perturbação do solo no momento do preparo para plantio, podendo ser resultado do N proveniente da mineralização da matéria orgânica presente no solo associado com a destruição dos agregados (LA SCALA et al; 2006). Os maiores picos de N<sub>2</sub>O foram registrados aos 4 e 10 DAP (Figura 3) após uma precipitação de 15 mm e 27 mm, e mesmo não sendo possível observar uma diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, todos os tratamentos fertilizados com N apresentaram emissão maior que o tratamento controle (Figura 3).



**Figura 3.** Fluxos e emissão acumulada de N<sub>2</sub>O após aplicação da adubação nitrogenada (Semeadura e Cobertura). Onde: N60= Urea 60 kg ha<sup>-1</sup>; N120= Ureia 120 kg ha<sup>-1</sup> Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+ Azospirillum.

O tratamento N120 teve os maiores picos de N<sub>2</sub>O, chegando a 14 e 16 mg N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> aos 5 e 15 DAP respectivamente, esse resultado já se era esperado, uma vez que esse tratamento recebeu o dobro da dose de N aplicado na forma de ureia. Os fluxos durante adubação de cobertura foram bem abaixo dos que ocorreram logo após o plantio. Após a aplicação da adubação de cobertura, os fluxos de N<sub>2</sub>O não excederam 5 mg N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> (figura 03). O tratamento N120 foi o que apresentou o maior pico durante esse período, chegando a uma emissão de 3,5 mg N<sub>2</sub>O logo após uma precipitação de 29,6 mm. Após o 46 DAP, as emissões de N<sub>2</sub>O não excederam 1 mg N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> e não mostraram diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) (figura 03). Esses dados estão de acordo com MARTINS et al. (2017), que mostrou elevada emissão nos primeiros 50 DAP, sendo os fluxos após a aplicação de cobertura

menores que os fluxos em semeadura. Outros autores também mostraram elevados fluxos de N<sub>2</sub>O nas primeiras semanas após a aplicação do fertilizante, atribuindo este efeito ao aumento da disponibilidade de N para os processos microbianos como a nitrificação e a desnitrificação e condições ambientais favoráveis a emissão de N<sub>2</sub>O nos solos, como umidade do solo elevada por ocorrência de chuva, C disponível, altas temperaturas, entre outros (JUMADI et al; 2008; LINZMEIER et al; 2001; MENÉNDEZ et al; 2006; SIGNOR et al; 2013; WEITZ et al; 2001; ZAMAN et al; 2008).

As emissões acumuladas dos tratamentos aos 65 DAP mostraram uma maior emissão no tratamento que recebeu uma dose de 120 kg N ha<sup>-1</sup> resultado já esperado, uma vez que quanto maior a dose de N aplicado, maior as perdas de N<sub>2</sub>O no solo. MARTINS et al. (2017) encontraram valores para emissão acumulada do tratamento ureia, em torno de 6 kg N<sub>2</sub>O-N ha<sup>-1</sup>. Embora o IPCC (2006) considere que as emissões de N<sub>2</sub>O aumentem linearmente em relação à dose de N aplicada, existem evidências de que para doses mais elevadas, ou mesmo o efeito do ambiente pode levar a um comportamento diferente (KIM et al; 2013).

Com base nos dados da (Figura 3), entre os tratamentos que receberam 60 kg N ha<sup>-1</sup>, não houve diferença significativa entre o tratamento N60 e o tratamento N60+Ini (p<0,05). Embora o inibidor de nitrificação DCD tenha sido considerado eficiente quando associado a fertilizantes nitrogenados nas doses de 5 a 10% do nitrogênio aplicado (SLAGEN & KERKHOFF, 1984), no presente trabalho a adição do inibidor não resultou em diferenças nas emissões de N<sub>2</sub>O (Figura 3).

Enquanto não se verificou efeito do inibidor de nitrificação, as emissões acumuladas de N<sub>2</sub>O mais próximas do controle foram observadas nos tratamentos que receberam inoculante (Figura 3). Isso pode ser resultado da redução do N<sub>2</sub>O pelo *Azospirillum*, uma vez que o N<sub>2</sub>O pode servir como acceptor de elétrons para a respiração microbiana (ZUMFT e KRONECK, 2006). Ishii et al. (2011), através de estudo filogenéticos, encontraram resultados que sugerem o efeito positivo na redução de N<sub>2</sub>O promovidos por *Azospirillum* e *Herbaspirillum*. Gao et al. (2016), encontrou resultados positivos de redução nas emissões de N<sub>2</sub>O de solos de pastagem cultivados com forrageiras inoculadas com *Azospirillum* e *Herbaspirillum*. Santos (2017), em estudos em casa de vegetação, observou redução nas emissões de N<sub>2</sub>O nos tratamentos que receberam *Azospirillum* e *Azospirillum* + inibidor de nitrificação.

Considerando a emissão total acumulada de N<sub>2</sub>O, foi possível estimar um fator de emissão para cada tratamento, que é a fração do N fertilizante emitido como N<sub>2</sub>O. Os fatores de emissão encontrados no presente estudo, variaram de ~0 a 0,01 kg de N-N<sub>2</sub>O kg<sup>-1</sup> de N fertilizante aplicado (Tabela 2).

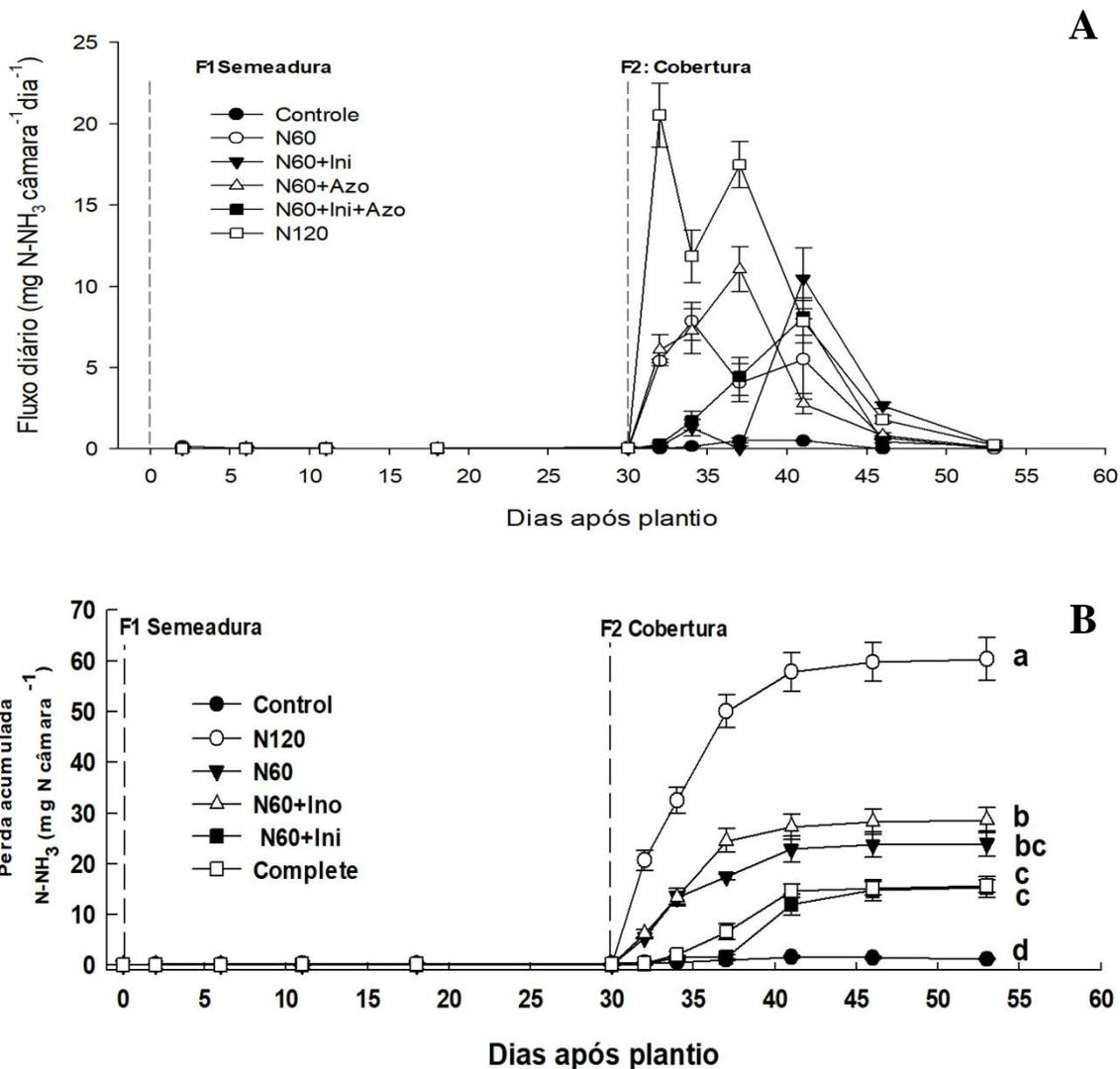
**Tabela 2.** Emissão acumulada de N<sub>2</sub>O da Ureia aplicada no sorgo e fator de emissão. Onde: N60= Ureia 60 kg ha<sup>-1</sup>; N120= Ureia 120 kg ha<sup>-1</sup> Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+ Azospirillum.

Tratamento	Dose de N aplicada	Emissão Total Acumulada em 60 dias (kg N <sub>2</sub> O -N ha <sup>-1</sup> )	Fator de Emissão (kg N-N <sub>2</sub> O kg <sup>-1</sup> N-ureia)
Controle	0	1,02±0,16	-
N120	120 kg N ha <sup>-1</sup>	2,08±0,36	0,001±0,001
N60	60 kg N ha <sup>-1</sup>	1,42±0,29	0,007±0,002
N60+Ini	60 kg N ha <sup>-1</sup>	1,66±0,33	0,011±0,002
N60+Ino	60 kg N ha <sup>-1</sup>	1,31±0,23	0,005±0,001
Completo	60 kg N ha <sup>-1</sup>	0,91±0,14	-0,002±0,0003

Os fatores de emissão para as doses de ureia de 60 e 60+Ini kg N ha<sup>-1</sup>, sem a adição de inibidor e/ou inoculante, são próximas do fator de emissão padrão de 0,01 kg/kg proposto pelo IPCC para uso em inventários nacionais de gases de efeito estufa. O uso de inibidor e inoculação em conjunto praticamente eliminou as emissões de N<sub>2</sub>O que seriam induzidas pela fertilização nitrogenada. MORAIS et al. (2013) encontraram valores de fator de emissão abaixo do estipulado pelo IPCC de 0,01 kg N-N<sub>2</sub>O kg<sup>-1</sup>. Alguns autores mostram outros valores para o fator de emissão nas condições de clima e solo do Brasil. MARTINS et al. (2017), em experimentos de campo nas mesmas condições climáticas que este experimento, encontrou valores de fator de emissão entre 0,014 e 0,036 kg N-N<sub>2</sub>O kg<sup>-1</sup>.

### 4.3 Volatilização de NH<sub>3</sub>

As perdas por volatilização de NH<sub>3</sub> na cobertura mostraram resposta à aplicação do inibidor de urease (figura 04). As perdas logo após a semeadura não foram significativas, uma vez que a ureia foi enterrada, abaixo da semente, não gerando uma acumulação significativa de NH<sub>3</sub> aos 30 DAP (p<0,05), que variaram entre 0,06 kg ha<sup>-1</sup> no tratamento (N60) e 0,01 kg N ha<sup>-1</sup> no tratamento (N60+NBPT) aos 30 DAP (Figura 04). Esse resultado pode ser uma resposta à incorporação da ureia no solo, mesmo em pequenas profundidades, reduzindo a volatilização (ERNST e MASSEY 1960) e aumentando a chance de o amônio formado ser retido pelas cargas negativas do solo (RODRIGUES e KIEHL 1986). Assim o N derivado da ureia estará disponível para o desenvolvimento da planta. Por outro lado, as perdas por volatilização de NH<sub>3</sub> após a aplicação do fertilizante em cobertura, foram iguais a 60 mg N câmara<sup>-1</sup> no tratamento N120 e 28 mg N câmara<sup>-1</sup> no tratamento N60+Azo (figura 04). Pode-se observar um aumento no conteúdo de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no solo para os tratamentos em questão (Figura 2), isso indica que a ureia sem inibidor foi hidrolisada após uma precipitação de 2,8 mm.



**Figura 4.** Fluxo diário e Perda acumulada por volatilização de NH<sub>3</sub> após aplicação da adubação nitrogenada (Semeadura e Cobertura). Letras no final do período representam diferenças significativas de acordo com o teste LSD (α=0,05). Médias seguidas por mesmas letras não diferem si.

Apesar de não ter sido observado diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos N60, N60+Ini e completo (figura 4), a época em que ocorreram as perdas de N por NH<sub>3</sub> variou entre eles. Enquanto o tratamento N60 teve suas perdas elevada nos primeiros 10 dias após a aplicação do fertilizante, os tratamentos com inibidor (N60+Ini e Completo) só tiveram suas perdas potencializadas aos 10 dias após aplicação do N fertilizante. Outros trabalhos mostram esse atraso nas emissões de NH<sub>3</sub> por volatilização. Essa variação espacial nas perdas pode estar sendo causada pelo NBPT. MARTINS et al. (2017) observou que os tratamentos com Inibidor da urease tiveram sua emissão retardada e os picos foram somente aos 19 dias após a fertilização. Em um experimento controlado SOARES et al. (2012) relata que as perdas do tratamento com NBPT ocorreram apenas 7 dias após aplicação da ureia tratada com NBPT.

**Tabela 3.** Emissão acumulada de NH<sub>3</sub> da ureia aplicada no sorgo e % de N perdido do fertilizante aplicado como NH<sub>3</sub>. Onde: N60= Ureia 60 kg ha<sup>-1</sup>; N120= Ureia 120 kg ha<sup>-1</sup> Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+ Azospirillum.

Tratamento	Dose de N aplicada (kg ha <sup>-1</sup> )	Emissão Total Acumulada (kg NH <sub>3</sub> -N ha <sup>-1</sup> )	% do N aplicado perdido por Volatilização de NH <sub>3</sub>
Controle	-	0,33±0,03 e	-
N120	120	11,98±0,85 a	9,71±0,12a
N60	60	4,72±0,55 bc	7,32 ±0,35a
N60+Ini	60	3,37±0,26 cd	5,07±0,01b
N60+Ino	60	5,64±0,53 b	8,86±0,21a
Completo	60	3,08±0,27 d	4,59±0,00b

O uso do NBPT como inibidor de urease, causou uma redução ( $p < 0,05$ ) de 40% e 46% nas perdas acumuladas por volatilização de NH<sub>3</sub>. Esse resultado está de acordo com os encontrados na literatura. Em um experimento de campo, MARTINS et al. (2017) usando ureia misturada com NBPT encontraram redução de aproximadamente 35% nas perdas por volatilização de NH<sub>3</sub> em um Argissolo, enquanto SOARES et al. (2012) obtiveram uma redução de 78% nas perdas por volatilização de NH<sub>3</sub> em um experimento conduzido sob condições controladas. As perdas acumuladas por volatilização de NH<sub>3</sub> no presente estudo não ultrapassaram 15% do N aplicado em forma de ureia, variando entre 5% e 10% do total de N aplicado nos tratamentos, sendo maior no tratamento que recebeu a maior dose de N (120 Kg N há<sup>-1</sup>) (tabela 3). Esses valores baixos nas emissões acumuladas podem estar relacionados com as condições ambientais como a não ocorrência de precipitação logo após a aplicação do N (Figura 2) e nas primeiras semanas que se seguiram, fato que demonstra reduzir as perdas por volatilização (CANTARELLA et al; 2008).

#### 4.4 Produção de grão, eficiência no uso de nitrogênio e N derivado do fertilizante.

Em relação à produção de grãos, os tratamentos que receberam N na forma de ureia, tanto o N120 como o N60, não apresentaram diferenças estatísticas entre si ( $p < 0,05$ ), mas apresentaram diferença estatística em relação ao controle (Tabela 4). Esse resultado mostra que mesmo aplicando metade da dose do N recomendado para a cultura, se observa um incremento na produtividade. O uso da inoculação sozinha ou inoculação em conjunto com inibidores (Nitrificação e Urease) resultaram em um incremento de apenas 1,7% e 7,7% respectivamente em relação ao tratamento que recebeu ureia pura. REPKE et al. (2013) e VOGT et al (2014), não encontraram benefícios consistentes da utilização de *Azospirillum* em relação a produtividade na cultura do milho em condições de campo. No entanto, em um estudo de campo com a cultura do milho na região do cerrado brasileiro, MARTINS et al. (2017) observaram um incremento na produção de grãos de 30% em relação ao tratamento não inoculado com *A. brasilense* Abv5 + Abv6. HUNGRIA et al. (2010) e CAVALLET et al. (2010) obtiveram ganhos de produtividade na ordem de 9 e 17%, respectivamente, com o uso de bactérias diazotróficas em milho. Esses resultados divergentes podem estar associados a diversos fatores, tanto ambientais como fatores da própria planta. Os

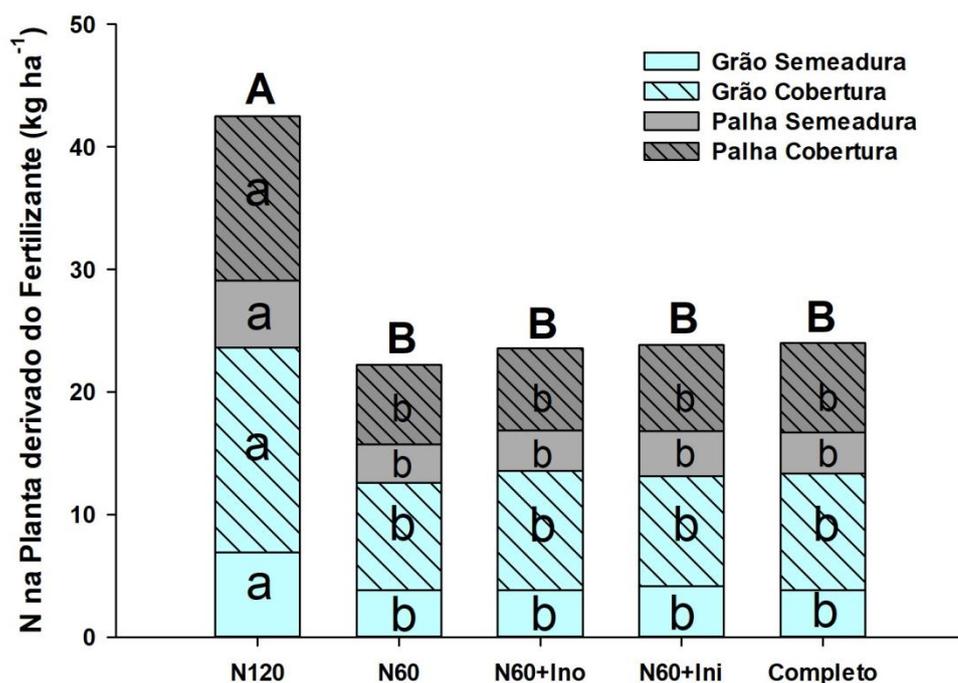
efeitos da inoculação com *Azospirillum* sp. na nutrição e produtividade das culturas, dependem da cultivar utilizada e das condições edafoclimáticas vigentes (DUARTE et al; 2012).

**Tabela 4.** Total de Nitrogênio acumulado, produção de grãos, palha e eficiência no uso de nitrogênio (EUN). Onde: N60= Ureia 60 kg ha<sup>-1</sup>; N120= Ureia 120 kg ha<sup>-1</sup>; Ino= Azospirillum; Ini = DCD+NBPT; Completo= DCD+NBPT+Azospirillum. Onde NS= Não significativo à 5%.

Tratamento	N acumulado (kg ha <sup>-1</sup> )	Produção (ton. ha <sup>-1</sup> )		Dose de N aplicada (kg ha <sup>-1</sup> )	% EUN
		Grão	Palha		
Controle	84,51 <b>b</b>	3,90±0,07 <b>b</b>	11,49±0,81 <b>b</b>	-	-
N120	125,74 <b>a</b>	5,17±0,22 <b>a</b>	16,67±1,52 <b>a</b>	120	35,4±3,8 <sup>NS</sup>
N60	106,71 <b>a</b>	4,73±0,09 <b>a</b>	16,27±1,80 <b>a</b>	60	37,0±2,0 <sup>NS</sup>
N60+Ini	115,99 <b>a</b>	4,82±0,16 <b>a</b>	17,45±0,46 <b>a</b>	60	39,3±2,5 <sup>NS</sup>
N60+Ino	116,51 <b>a</b>	4,78±0,22 <b>a</b>	16,55±2,22 <b>a</b>	60	39,8±3,6 <sup>NS</sup>
Completo	116,34 <b>a</b>	5,13±0,37 <b>a</b>	18,02±0,84 <b>a</b>	60	40,0±1,5 <sup>NS</sup>

Através dos valores de %NPSF, %N e produção de grão e palha, foi possível obter a eficiência no uso de nitrogênio (Tabela 4). A eficiência no uso de nitrogênio do fertilizante variou entre 37% e 40% com uma média de 39%. Não foi possível verificar diferença significativa na eficiência no uso de N no sorgo entre os tratamentos ( $p>0,05$ ). Uma explicação possível para a falta de um efeito pelo uso do *Azospirillum* na eficiência no uso de N no presente estudo é uma interação entre a estirpe da bactéria e o genótipo de sorgo que pode ter suprimido o efeito da inoculação. Muitos estudos na literatura mostram que o efeito positivo do PGPB é dependente do genótipo da planta (Garcia de Salamone et al. 1996; Baldani et al. 2000; Monteiro et al. 2012). É importante considerar que, apesar da inoculação com as estirpes ABV5 e ABV6 de *Azospirillum* não ter apresentado efeito positivo na recuperação de N nas plantas de sorgo, outros trabalhos mostram dados positivos para o uso desta tecnologia no desenvolvimento da planta.

Os resultados de <sup>15</sup>N nos grãos e palha indicam que a porcentagem de N na planta derivada da ureia marcada (% Ndff) não foi significativamente afetada pelo uso de inoculante, houve até uma tendência de maiores valores nos tratamentos inoculados (Figura 5).



**Figura 5.** Recuperação do nitrogênio derivado do fertilizante pelas plantas de sorgo. Médias seguidas por mesmas letras não diferem entre si pelo teste LSD ( $\alpha < 0,05$ ). Onde as letras minúsculas correspondem ao N presente no grão e palha e letras maiúsculas representam o N acumulado na planta inteira

Com relação ao nitrogênio derivado do fertilizante presente na planta (grão+palha), os tratamentos N60, N60+Ino, N60+Ini e Completo, não apresentaram diferença estatística entre si ( $p < 0,05$ ) (Figura 5). Dentre os tratamentos que receberam adubação com N, o tratamento N60 apresentou menor valor de N derivado do fertilizante em relação aos demais tratamentos. Esta redução pode estar relacionada com as perdas de N por volatilização de  $\text{NH}_3$  (Figura 4), lixiviação etc. O N acumulado na planta inteira foi de 42,5; 22,2; 23,6; 23,9 e 23,9  $\text{kg N ha}^{-1}$  derivado do fertilizante para os tratamentos N120, N60, N60+Ino, N60+Ini e Completo respectivamente.

## 5. CONCLUSÕES

A combinação das tecnologias de inibidores e de inoculação de sementes com PGPB não resulta em maior eficiência de uso de N vindo da fertilização com 60 kg N ha<sup>-1</sup> como ureia.

O uso da mistura de DCD e NBPT para inibir nitrificação não reduz as perdas de N na forma de N<sub>2</sub>O, mas é eficiente na redução das perdas de NH<sub>3</sub> por volatilização.

A combinação das tecnologias de inibidores de nitrificação e da urease e a inoculação de sementes com PGPB mostrou ser eficiente na redução das emissões de N<sub>2</sub>O.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIYAMA, H; YAN, X; YAGI, K. Evaluation of effectiveness of enhanced-efficiency fertilizers as mitigation options for N<sub>2</sub>O and NO emissions from agricultural soils: meta-analysis. **Global Change Biology**, 16, 1837–1846, 2010.

ARDAKANI, M. R; MAZAHARI, D; MAFAKHERI, S; MOGHADDAM, A. Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp; *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 17, n. 2, p. 181-192, 2011.

BAKKER, P. A; BAKKER, H. M; MARUGG, A. W; WEISBECK, J. D; SCHIPPERS, P. J. Bioassay for studying the role of siderophores in potato stimulation by *Pseudomonas* spp. in short potato rotations. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.19, n.4, p.443-449, 1987.

BALDANI, V. L. D; BALDANI, J. I; DÖBEREINER, J. (2000) Inoculation of rice plants with endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. **Biology and Fertility of Soils**, v. 30, n. 5-6, p. 485-491, 2000.

BALDANI, V. L. D. Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica. 1996b. 238p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

BASHAN, Y; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth—a critical assessment. In: **Advances in agronomy**. Academic Press, 2010. p. 77-136.

BASUCHAUDHURI, P. Nitrogen nutrition in rice. **Indian Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 28-37, 2015.

BREMMER, J. M; BLACKMER, G. A; BLACKMER, A. M. Effect of Nitrapyrin on Emission of Nitrous oxide from soil fertilized with anhydrous ammonia. **Geophysical Research Letters**, v. 8, n. 4, p. 353-356, 1981.

CANTARELLA, H; TRIVELIN, P.C.O; CONTIN, T.L.M; DIAS, F.L.F; ROSSETTO, R; MARCELINO, R; COIMBRA, R.B; QUAGGIO, J.A. Ammonia volatilization from urease inhibitor-treated urea applied to sugarcane trash blankets. **Scientia Agricola**, v.65, p.397-401, 2008.

CASSÁN, F. D; OKON, Y, CREUS CM (2015) **Handbook for Azospirillum**. Springer, Basel. doi, v. 10, p. 978-3, 2015.

CATTELAN, A. J. Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal. Londrina: **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 1999.

CAVALLET L. E; PESSOA A. C. S; HELMICH J. J; HELMICH P. R; OST C. F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.

CHANGE, IPCC Intergovernmental Panel Climate. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme, Eggleston HS, Buendia L. **Publicado por: IGES, Japón**, 2006.

CHALK, P. M; CRASWELL, E. T; POLIDORO, J. C; CHEN, C; 2015. Fate and efficiency of <sup>15</sup>Nlabelled slow- and controlled release fertilizers. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 102, n. 2, p. 167-178, 2015

CHANWAY, C. P; HOLL, F.B. Growth of outplanted lodgepole pine seedlings one year after inoculation with growth promoting rhizobacteria. **Forest Science**, Bethesda, v.40, n.2, p.238-246, 1994.

CHIEN, S.H; PROCHNOW, L.I; CANTARELLA, H. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. **Advances in Agronomy**, v.102, p.267-322, 2009.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). Série Histórica—Brasil por produtos. Available at <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/BrasilProdutoSerieHist.xls>. Retrieved on the 15th of October, 2009

CONRAD, J. P. The nature of the catalyst causing the hydrolysis of urea in soils. **Soil Science**, v. 50, n. 2, p. 119-134, 1940.

CRUTZEN, P. J; MOSIER, A. R; SMITH, K. A. & WINIWARTER, W. N<sub>2</sub>O release from agro-biofuel production negates global warming reduction by replacing fossil fuels. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 8, n. 2, p. 389-395, 2008.

CRUTZEN, P. J; SOLOMON, S. Response of mesospheric ozone to particle precipitation. **Planetary and Space Science**, v. 28, n. 12, p. 1147-1153, 1980.

DAVIDSON, E. A; KELLER, M; ERICKSON, H. E; VERCHOT, L. V; VELDKAMP, E. Testing a conceptual model of soils emissions of nitrous and nitric oxides. **Bioscience**, 50:667- 680, 2000.

DOMÍNGUEZ, M. J; SANMARTIN, C; FONT, M; PALOP, J. A; FRANCISCO, S. S; URRUITA, O; HOUDUSSE, F; GARCIA-MINA, J. M. Design, synthesis, and biological evaluation of phosphoramidate derivatives as urease inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New York, v, 56, p. 3721-3731, 2008.

DUARTE, A. P; PIEDADE, R. C; MARTINS, V. C; CANTARELLA, H; BARROS V. L. N. P. Resposta de cultivares de milho ao nitrogênio em cobertura e à inoculação com *Azospirillum*. In: **Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. 2012. p. 1786-92.

DUXBURY, J. M; SMITH, M. S; DORAN, J. M. Soil organic matter as a source and a sink of plant nutrients. In: COLEMAN, D.C; OADES, J.M; UEHARA, G. (eds.). Dynamics of soil organic matter in **tropical ecosystems** . University of Hawaii, Honolulu, p. 33-67, 1994.

ERISMAN, J. W; SUTTON, M. A; GALLOWAY, J; KLIMONT, Z; WINIWARTER, W. How a century of ammonia synthesis changed the world. **Nature Geoscience**, v. 1, n. 10, p. 636, 2008.

ERNST, J.W; MASSEY, H.F. The effects of several factors on volatilization of ammonia formed from urea in the soil. **Soil Science Society America Proceedings**, v. 24, p. 87-90, 1960.

EVANS, H.J; BURRIS, R.H. Highlights in Biological Nitrogen Fixation during the last 50 years. In: STACEY, G; BURRIS, R. H; EVANS, H. J. (Eds.) **Biological Nitrogen Fixation**. New York: Chapman and Hall, p. 1-42, 1992.

FILLERY, I. R. P; DE DATTA, S. K. Ammonia volatilization from losses sources applied to rice fields: I. Methodology, ammonia fluxes, and nitrogen- 15 losses. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v50, p. 80- 86, 1986.

FORSTER, P; RAMASWAMY, V; ARTAXO, P; BERNTSEN, T; BETTS, R; FAHEY, D.W; HAYWOOD, J; LEAN, J; LOWE, D.C; MYHRE, G; NGANGA, J; PRINN, R; RAGA, G; SCHULZ, M; VAN DORLAND, R; 2007. Changes in atmospheric constituents and radiative forcing. In: **Climate Change 2007. The Physical Science Basis**. 2007.

FUKAMI, J; OLLERO, F. J; MEGÍAS, M; HUNGRIA, M. (2017) Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, v. 7, n. 1, p. 153, 2017.

GARCIA DE SALAMONE, I. E, DÖBEREINER J, URQUIAGA S, BODDEY RM (1996) Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by the <sup>15</sup>N isotope dilution technique. **Biology and Fertility of Soils**, v. 23, n. 3, p. 249-256, 1996.

HERRERA, J. M; RUBIO, G; HÄNER, L. L; DELGADO, J. A; Lucho-Constantino, C.A; Islas- Valdez, S; Pellet, D; 2016. Emerging and established technologies to increase nitrogen use efficiency of cereals. **Agronomy**, v. 6, n. 2, p. 25, 2016.

HERRIDGE, D.F; PEOPLES, M.B; BODDEY, R.M; 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. **Plant and soil**, v. 311, n. 1-2, p. 1-18, 2008..

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

HUNGRIA M, CAMPO RJ, SOUZA EM, PEDROSA FO Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010..

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E)**, 2011.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme. EGGLESTON, H.S; BUENDIA, L; MIWA, K; NGARA, T. & TANABE, K. (eds). Publicado por: **IGES**, Japão. 2006. 628 p.

IPCC (International Panel on Climate Change) **Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories**. P. 546-554, 2007.

JANTALIA, CLAUDIA P; SANTOS, H. P; URQUIAGA, S; BODDEY, R. M; ALVES, B. J. R. "Fluxes of nitrous oxide from soil under different crop rotations and tillage systems in the South of Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, 82: 161-173. 2008.

JANTALIA, C. P; HALVORSON, A. D; FOLLETT, R. F; ALVES, B. J. R; POLIDORO, J. C; URQUIAGA, S. Nitrogen source effects on ammonia volatilization as measured with semi-static chambers. **Agronomy Journal**, 104:1595-1603, 2012.

JUMADI, O; HALA, Y; MUIS, A; ALI, A; PALENNARI, M; YAGI, K; INUBUSHI, K. Influences of chemical fertilizers and a nitrification inhibitor on greenhouse gas fluxes in a corn (*Zea mays* L.) field in Indonesia. **Microbes and environments**, v. 23, n. 1, p. 29-34, 2008.

KRAJEWSKA, B. Ureases I. Functional, catalytic and kinetic properties: A review. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 59, n. 1-3, p. 9-21, 2009.

LA SCALA J. R. N; BOLONHEZI, D; PEREIRA, G.T; 2006. Short-term soil CO<sub>2</sub> emission after conventional and reduced tillage of a no-till sugar cane area in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 91, n. 1-2, p. 244-248, 2006.

LAM. S. K; SUTER, H; MOSIER, A. R; CHEN, D. Using nitrification inhibitors to mitigate agricultural N<sub>2</sub>O emission: a double-edged sword?, **Global Change Biology**, v. 23, n. 2, p. 485-489, 2017.

LEE, J; SIX, J; KING, A. P; VAN KESSEL, C; ROLSTON, D. E. Tillage and field scale controls on greenhouse gas emissions. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, n. 3, p. 714-725, 2006.

LINZMEIER, W; GUTSER, R; SHMIDHALTER, U. Nitrous oxide emission from soil and from a nitrogen-15-labelled fertilizer with the new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP). **Biology and Fertility of Soils**, v. 34, n. 2, p. 103-108, 2001

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006.

MALHI, S. ; GRANT, C. A; JOHNSTON, A. M; GILL, K. S. Nitrogen fertilization management for no-till cereal production in the Canadian Great Plains: a review. **Soil and Tillage Research**, v. 60, n. 3-4, p. 101-122, 2001.

MARTIN, J. H. Historia y clasificación de los sorgos (*Sorghum bicolor* (Linn.) Moench). In: WALL, L. S; ROSS, W. M. **Producción y usos Del sorgo**. Buenos Aires: Ed. Hemisfério Sur. 1975. p. 4-6.

MARTINS, M. R; JANTALIA, C. P; POLIDORO, J. C; BATISTA, J. N; ALVES, B. J; BODDEY, R. M; URQUIAGA, S. Nitrous oxide and ammonia emissions from N fertilization of maize crop under no-till in a Cerrado soil. **Soil and Tillage Research**, 151: 75-81. 2015.

MARTINS, M. R; S. A. C. SANT'ANNA; M. ZAMAN; R. C. SANTOS; R. C. MONTEIRO; B. J. R. ALVES; C. P. JANTALIA, R. M. BODDEY; S. URQUIAGA. Strategies for the use of urease and nitrification inhibitors with urea: Impact on N<sub>2</sub>O and NH<sub>3</sub> emissions, fertilizer-<sup>15</sup>N recovery and maize yield in a tropical soil. **Agriculture, ecosystems & environment**, 247:54-62. 2017.

MATSON, P. A; McDOWELL, W.H; TOWNSEND, A.R; VITOUSEK, P.M. The globalization of N deposition: ecosystem consequences in tropical environments. **Biogeochemistry**, v. 46, n. 1-3, p. 67-83, 1999.

MEHNAZ, S; LAZAROVITS, G. Inoculation effects of *Pseudomonasputida*. *Ghiconacetobacter azotocaptans*. and *Azospirillum lipoferum* on com plant growth in greenhouse conditions. **Microbial Ecology**, v. 51, n. 3, p. 326-335, 2006.

MENÉNDEZ, S; MERINO, P; PINTO, M; GONZÁLEZ-MURUA, C; ESTAVILLO, J. M. 3,4-dimethylpyrazol phosphate effect on nitrous oxide, nitric oxide, ammonia, and carbon dioxide emissions from grasslands. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, n. 4, p. 973-981, 2006.

MONTEIRO, R. A; BALSANELLI, E; WASSEM, R; MARIN, A. M; BRUSAMARELLO-SANTOS, L. C; SCHMIDT, M. A; PEDROSA, F. O. *Herbaspirillum*-plant interactions: microscopical, histological and molecular aspects. **Plant and Soil**, v. 356, n. 1-2, p. 175-196, 2012.

MOSIER, A; WASSMANN, R; VERCHOT, L; KING, J; PALM, C. Methane and nitrogen oxide fluxes in tropical agricultural soils: sources, sinks and mechanisms. **Environment, Development and Sustainability**, v. 6, n. 1-2, p. 11-49, 2004.

MÜLLER, C; STEVENS, R. J; LAUGHLIN, R. J. Evidence of carbon-stimulated N transformations in grassland soil after slurry application. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 35, n. 2, p. 285-293, 2003.

NOGUEIRA, E. M. de; VINAGRE, F; MASUDA, H. P; VARGAS, C; PÁDUA, V. L. M. de; SILVA, F. R. da; SANTOS, R. V. dos; BALDANI, J. I; FERREIRA, P. C. G; HEMERLY, A. S. Expression of sugarcane genes induced by inoculation with *Gluconacetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum rubrisubalbicans*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 24, p. 199-206, 2001.

PEREG, L; LUZ, E; BASHAN, Y. (2016) Assessment of affinity and specificity of Azospirillum for plants. **Plant and soil**, v. 399, n. 1-2, p. 389-414, 2016.

PEREIRRA, A. S; MAY, P. H. Economia do aquecimento global. **Economia do meio ambiente: teoria e prática**. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 219-244, 2003.

QIAO C; LIU L, H. U S; COMPTON, J. E; GREAVER T. L; LI, Q How inhibiting nitrification affects nitrogen cycle and reduces environmental impacts of anthropogenic nitrogen input. **Global change biology**, v. 21, n. 3, p. 1249-1257, 2015.

RAIJ, B. V. **Fertilidade do Solo e Adubação**. Piracicaba: Editora Agronomica Ceres;, 1991.

REIS, V. M. **Interações entre Plantas e Microrganismos**. Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E), 2005.

REPKE, R. A; CRUZ, S. J. S; SILVA, C. J; FIGUEIREDO, P. G; BICUDO, S. J. Eficiência do Azospirillum brasiliense combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, p. 214-226, 2013.

RESTONE ,M.K; DAVIDSON, E.A. Microbiological basis of NO and N<sub>2</sub>O production and consumption in soil. **Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere**, v. 47, p. 7-21, 1989.

RIBAS, P. M. Cultivo do sorgo - Importância econômica. 2008. Disponível em: [http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo\\_3\\_ed/importancia.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_3_ed/importancia.htm) acessado em 14/04/2017.

RITCHIE, G. A; NICHOLAS, D. J. D. Identification of the sources of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomonas europaea*. **Biochemistry**, Dordrecht, 126:1181-1191, 1972.

ROBERTSON, G.P; GRACE, P.R. Greenhouse gas fluxes in tropical and temperate agriculture: the need for a full-cost accounting of global warming potentials. **environment, Development and Sustainability**, v.6, p.51-63, 2004.

RODRIGUES, M.B; KIEHL, J.C. Volatilização de amônia após emprego de uréia em diferentes doses e modos de aplicação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.10, p.37-43, 1986.

RUAS, D. G; GARCIA, J. C; TEIXEIRA, N. M. Origem e importância do sorgo para o Brasil. **RECOMENDAÇÕES PARA O CULTIVO DO SORGO**. Circular Técnica, EMBRAPA/CNPMS, n. 1, p. 7-13, 1982.

SAHRAVAT, K. L; KEENEY, D. R; ADAMS, S. S. Ability of nitrapyrin, dicyadamide and acetylene to retard to nitrification in a mineral and an organic soil. **Planta and Soil** 101, p. 178-182, 1987.

SANTOS, C. L. R. **Efeito da Inoculação de Bactérias Diazotróficas em Sorgo Granífero, Forrageiro e Sacarino**. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2010. 66f. (Dissertação de Mestrado).

SCHEER, C; WASSMANN, R; KIENZLER, K; IBRAGIMOV, N; ESCHANOV, R. Nitrous oxide emissions from fertilized, irrigated cotton (*Gossypium hirsutum* L.) in the aral sea basin, zbekistan: Influence of nitrogen applications and irrigation practices, **Soil Biology & Biochemistry**, v 40, p, 290–301, 2008.

SIGNOR, D; CERRI, C.E.P; CONANT, R. N<sub>2</sub>O emissions due to nitrogen fertilizer applications in two regions of sugarcane cultivation in Brazil. **Environmental Research Letters**, v. 8:015013, 2013.

SILVA, A. G. *et.al.* Avaliação Agronômica De Cultivares De Sorgo Forrageiro No Sudoeste Do Estado De Goiás Em 2005. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.6, n.1, p.116-127, 2007.

SINGH, S. N; VERMA, A. The Potential of Nitrification Inhibitors to Manage the Pollution Effect of Nitrogen Fertilizers in Agricultural and Other Soils: A Review. **Environmental Practice**, v. 9, n. December 2007, p. 266–279, 2008.

SKIBA, U; SHEPPARD, L; PICAIRNA, C. E. R; LEITH, I; CROSSLEY, A. VAN DIJKA, S; KENNEDYB, V. H. Soil nitrous oxide and nitric oxide emissions as indicators of elevated atmospheric N deposition rates in seminatural ecosystems. **Environmental Pollution**, 102:457-461. 1998.

SLAGEN, J. H. G; KERKHOFF, H. Nitrification inhibitors in agriculture and horticulture: a literature review. **Fertilizer Research**, v. 5, p. 1 – 76, 1984.

SMITH, K. A; McTAGGART, I. P; DOBBIE, K. E; CONEN, F. Emissions of N<sub>2</sub>O from Scottish agricultural soils, as a function of fertilizer N. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, 52(2-3):123-130, 1998.

SOUZA, C. C. D; DANTAS, J. P; SILVA, S. D. M; SOUZA, V. D; ALMEIDA, F. D; SILVA, L. D. Produtividade do Sorgo Granífero cv. Sacarino e Qualidade de Produtos Formulados Isoladamente ou Combinados ao Caldo de Cana-de-Açúcar. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 25 n.3, Campinas - Julho/Set. 2005.

STEENHOUDT, O; VANDERLEYDEN, J. Azospirillum, a free-living nitrogen fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v.24, p.487-506, 2000.

STEVENS, R. J; LAUGHLIN, R. J; BURNS, L. C; ARAH, J. R. M; HOOD, R. C. Measuring the contributions of nitrification and denitrification to the flux of nitrous oxide from soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 139-151, 1997.

SUBBARAO, G. V. *et al*; Scope and Strategies for Regulation of Nitrification in Agricultural Systems-Challenges and Opportunities. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, n. 4, p. 303–335, 2006.

- TIEDJE, J.M; SEXSTONE, A. J; PARKIN, T. B; REVSBECH, N. P. & SHELTON, D.R. Anaerobic processes in soil. **Plant and Soil**, 76:197-212. 1984.
- TRIVELIN, P. C. O; BENDASSOLLI, J. A; OLIVEIRA, M. W; MURAOKA, T. Potencialidade da mistura de aquamônia com vinhaça na fertilização de canaviais colhidos sem despalha a fogo. Parte II. Perdas por volatilização de amônia e recuperação do <sup>15</sup>N aplicado ao solo. STAB. **Açúcar, Álcool e Subprodutos**, 16(3):23-6, 1998.
- VAN DER GON H. D, BLEEKER A. Indirect N<sub>2</sub>O emission due to atmospheric N deposition for the Netherlands. **Atmospheric Environment**, 39, 5827–5838, 2005.
- VANCE, C. P. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. **Plant Physiology**, v. 127, p. 390-397, 2001.
- VANDERZAAG, A. C; JAYASUNDARA, S; WAGNER-RIDDLE, C. Strategies to mitigate nitrous oxide emissions from land applied manure. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166-167, p. 464–479, jun. 2011
- VELDKAMP, E; KELLER, M; NUÑES, M. Effects of pasture management on N<sub>2</sub>O and NO emissions from soils in the humid tropics of Costa Rica. **Global Biogeochemical Cycles**, 12:71-79. 1998.
- VENTEREA, R. T; CLOUGH, T. J; COULTER, J. A; BREUILLIN-SESSOMS, F. Ammonium sorption and ammonia inhibition of nitrite-oxidizing bacteria explain contrasting soil N<sub>2</sub>O production. **Scientific Reports**, v. 5, n. 12153, 2015.
- Vogt G. A; Balbinot Junior A. A; Galotti, G. J. M; Padolfo C. M, Zoldan, S. Desempenho de genótipos de milho na presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasiliense* e adubação nitrogenada de cobertura. **Agropecuária Catarinense**.27:49-54. 2014.
- WEITZ, A.M; LINDER, E; FROLKING, S; CRILL, P.M; KELLER, M. N<sub>2</sub>O emissions from humid tropical agricultural soils: effects of soil moisture, texture and nitrogen availability. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 1077-1093, 2001.
- WRAGE, N; VELTHOF, G. L; VAN BEUSICHEM, M. L; OENEMA, O. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, 33(12-13):1723-1732, 2001.
- ZAMAN, M, NGUYEN, M. L. How application timings of urease and nitrification inhibitors affect N losses from urine patches in pastoral system. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 156, 37–48, 2012.
- ZAMAN, M; BLENNERHASSET, J.D; QUIN, B. F. Reducing NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> - N losses from a pasture soil with urease or nitrification inhibitors and elemental S-amended nitrogenous fertilizers. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, n. 5, p. 693-705, 2008

ZHAO, D; RAJA K. R; KAKANIA, V. G; REDDYB, V. R. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum **European Journal of Agronomy**, Amsterdam, v.22, n.4, p. 391-403, 2005.

ZUCHELLO. F. **Emissões de Óxido Nitroso (N<sub>2</sub>O) de Cambissolo Cultivado com Cana-de-açúcar em Campos dos Goytacazes: Impacto de Adubações com Vinhaça e Uréia**. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2010. 45f. (Dissertação de Mestrado).