



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**NUTRIÇÃO E DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO NO CONSÓRCIO DE MILHO
ORGÂNICO COM DIFERENTES DENSIDADES DE FABÁCEAS**

LEILA BONFANTI

**Araras
(2019)**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**NUTRIÇÃO E DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO NO CONSÓRCIO DE MILHO
ORGÂNICO COM DIFERENTES DENSIDADES DE FABÁCEAS**

LEILA BONFANTI

**ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. ANASTÁCIA FONTANETTI
CO-ORIENTADOR: DR. ADEMIR DURRER BIGATON**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE EM PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS

Araras
(2019)

Bonfanti, Leila

Nutrição e disponibilidade de nitrogênio no consórcio de milho orgânico com diferentes densidades de fabáceas / Leila Bonfanti. – 2019.
61 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, Araras

Orientador: Anastácia Fontanetti

Banca examinadora: Ademir Durrer Bigaton, Victor Augusto Forti, Maurício Rumenos Guidetti Zagatto

Bibliografia

1. Consórcio. 2. Fabáceas. 3. Nitrogênio. I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Maria Helena Sachi do Amaral – CRB/8 7083



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Leila Bonfanti, realizada em 19/02/2019:

Anastácia Fontanetti

Profa. Dra. Anastacia Fontanetti
UFSCar

Durrer

Prof. Dr. Ademir Durrer Bigaton
USP

Forti

Prof. Dr. Victor Augusto Forti
UFSCar

Guidetti

Prof. Dr. Mauricio Rumenos Guidetti Zagatto
ESALQ/USP

AGRADECIMENTOS

Aos amigos e colegas de trabalho do NEPAC (Núcleo de Estudo e Pesquisa em Agricultura da Conservação), por todo trabalho e alegria compartilhado;

Aos meus pais, Emília e José Antônio, por todo suporte e amor recebido;

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Anastácia Fontanetti e ao meu Co-orientador Dr. Ademir Durrer Bigaton por todo auxílio prestado;

Ao laboratório do PMGCA (Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar) - CCA/UFSCar, em especial Prof^a. Dr^a. Monalisa Carneiro e ao laboratório de Microbiologia do Solo - ESALQ, em especial Prof^a. Dr^a. Elke J. B. N. Cardoso.

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

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	I
ÍNDICE DE FIGURAS	li
RESUMO	lii
ABSTRACT	lv
1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	05
3 REVISÃO DA LITERATURA	06
3.1 Característica das fabáceas.....	06
3.2 Demanda de nutrientes pelo milho.....	09
3.3 Manejo da competição interespecífica no consórcio de milho com fabáceas.....	12
3.4 Fixação biológica de nitrogênio no solo em cultivos consorciados de milho com fabáceas.....	14
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 Condução do experimento.....	18
4.1.1 Caracterização da área experimental.....	18
4.1.2 Delineamento experimental.....	20
4.1.3 Condução do experimento.....	20
4.2 Avaliações.....	21
4.2.1 Análise de crescimento, teor de macronutrientes e produtividade de grãos do milho.....	21
4.2.1.1 Índice de Área Foliar (IAF).....	21
4.2.1.2 Matéria seca do milho (MSM).....	22
4.2.1.4 Teor de macronutrientes foliares do milho.....	22
4.2.1.3 Índice de clorofila falker (ICF).....	22
4.2.1.5 Produtividade de grãos de milho (PROD).....	22
4.2.2. Análise de crescimento e acúmulo de macronutrientes das fabáceas.....	22
4.2.2.1 Matéria seca da parte aérea das fabáceas (MSF).....	22
4.2.2.2 Acúmulo de macronutrientes na parte aérea das fabáceas.....	23

4.2.3	Disponibilidade de nitrogênio no solo.....	23
4.2.3.1	Teores de amônio (NH ₄ ⁺) e nitrato (NO ₃ ⁻) no solo.....	23
4.2.3.2	Quantificação do gene <i>nifH</i>	24
4.2.4	Forma de análise dos resultados.....	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1	Crescimento e produtividade de grãos do milho.....	25
5.2	Crescimento e acúmulo de macronutrientes das fabáceas.....	31
5.2	Disponibilidade de nitrogênio no solo.....	32
6	CONCLUSÕES	38
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
8	LITERATURA CITADA	41

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Dados de temperatura mínima, média e máxima ($^{\circ}\text{C}$) mensal, radiação global (MJ m^{-2}) total e média e, precipitação pluviométrica total (MM) observados durante a condução do experimento. Araras/SP, safra 2017/18....	19
Tabela 2. Características químicas do solo da área experimental. Araras/SP, safra 2017/18.....	20
Tabela 3. Índice de área foliar (IAF), matéria seca do milho (MSM) e índice de clorofila falker (ICF) nos estádios fenológicos V4, V8 e VT do milho, teor de macronutrientes foliar do milho (g Kg^{-1}) no estágio VT e produtividade de grãos (PROD) do milho em função dos consórcios. Araras/SP, safra 2017/18.....	26
Tabela 4. Contrastes entre os consórcios e o milho solteiro para as índice de área foliar (IAF), matéria seca do milho (MSM) e índice de clorofila falker (ICF) nos estádios fenológicos V4, V8 e VT do milho, teor de macronutrientes foliar do milho (g Kg^{-1}) no estágio VT e produtividade de grãos (PROD) do milho. Araras/SP, safra 2017/2018.....	30
Tabela 5. Matéria seca das fabáceas (MSF) nos estádios fenológicos V4, V8, VT e R6 do milho e acúmulo de macronutrientes das fabáceas no estágio R6 em função dos consórcios. Araras/SP, safra 2017/18.....	32
Tabela 6. Determinação de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) e expressão do gene <i>nifH</i> no solo, na profundidade de 0,0 - 0,20 m, nos estádios V2, V4 e VT do milho, em função dos consórcios e, contrastes entre os consórcios e o milho solteiro para as mesmas variáveis. Araras/SP, safra 2017/18.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Balanço hídrico mensal do município de Araras/SP, para o período de agosto de 2017 a julho de 2018. Araras/SP, safra 2017/2018.....	19
Figura 2. Biplot da distribuição em dois componentes principais das variáveis: índice de área foliar (IAF), matéria seca do milho (MSM), índice de clorofila falker (ICF) nos estádios V4, V8 e VT do milho, teor de nitrogênio foliar em e produtividade de grãos do milho (PROD) em VT, acúmulo de nitrogênio e produção de matéria seca das fabáceas (MSF) nos estádios V4, V8, VT e R6, teor de nitrato e amônio do solo e expressão do gene <i>nifH</i> nos estádios V2, V4 e VT do milho. Araras/SP, safra 2017/18.....	37

NUTRIÇÃO E DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO NO CONSÓRCIO DE MILHO ORGÂNICO COM DIFERENTES DENSIDADES DE FABÁCEAS

Autor: LEILA BONFANTI

Orientadora: Prof^a. Dr^a. ANASTÁCIA FONTANETTI

Co-orientador: Dr. ADEMIR DURRER BIGATON

RESUMO

O consórcio de milho com fabáceas tem sido estudado como complemento da adubação nitrogenada, via fixação biológica (FBN) e, incremento no teor de matéria orgânica do solo, melhorando a ciclagem de nutrientes. Sabe-se que a espécie e a densidade de fabáceas no consórcio alteraram os padrões de competição interespecífica e demandam estudos adicionais para otimizar seus efeitos positivos no consórcio com o milho. Dessa maneira, objetivou-se avaliar a disponibilidade de nitrogênio (N) no solo, o crescimento, o estado nutricional e a produtividade de grãos do milho em consórcio com diferentes densidades de *Crotalaria spectabilis* Roth e *Cajanus cajan* (L.) Millsp, no sistema orgânico. O estudo foi conduzido na safra 2017/18, na UFSCar/Araras, SP e o delineamento experimental foi o de blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos consistiram em quatro consórcios de milho com: (MC5) *C. spectabilis* - 5 plantas m⁻¹; (MG5) *C. cajan* - 5 plantas m⁻¹; (MCG10) *C. spectabilis* e *C. cajan* - 10 plantas m⁻¹ (cinco plantas de cada espécie); (MCG6) *C. spectabilis* e *C. cajan* - 6 plantas m⁻¹ (três plantas de cada espécie) e uma testemunha lateral, M) milho solteiro. Para o milho foram avaliados índice de área foliar - IAF, matéria seca - MSM e índice de clorofila Falker- ICF, nos estádios fenológicos V4, V8 e VT; teor de macronutrientes foliar em VT e, produtividade de grãos em R6. Para as fabáceas avaliou-se a matéria seca (MSF) nos estádios V4, V8, VT e R6 do milho, e o acúmulo de macronutrientes em R6. A disponibilidade de N foi avaliada quanto aos teores de amônio (NH₄⁺) e nitrato (NO₃⁻) e a quantificação do gene *nifH* no solo em V2, V4 e VT. Observou-se redução no crescimento e produtividade de grãos do milho com o aumento da densidade de fabáceas (MCG10) e no consórcio com guandú-anão (MG5), devido a potencialização da competição interespecífica. Por outro lado, o consórcio com crotalária (MC5) proporciona incrementos na produção de MSM. Quanto ao estado nutricional do milho os consórcios com as fabáceas (MCG6, MG5 e MC5) aumentaram os teores foliares de fósforo (P) e potássio (K) e, o aumento da densidade de fabáceas (MCG10) acarreta em competição interespecífica nutricional, reduzindo os teores de P, K e enxofre (S) foliar do milho. Não foram observados incrementos nos teores de N do milho na presença das fabáceas. Para a disponibilidade de N no solo, o cultivo simultâneo de *C. spectabilis* e *C. cajan* com o milho (MCG6) reduz os teores de NH₄⁺ e NO₃⁻ no solo e em contrapartida, aumenta o ICF no milho em comparação aos demais consórcios, sugerindo a absorção do N do solo pelo milho. A maior produção de MSF (MG5 e MCG10) aumenta a quantidade do gene *nifH* no solo.

Palavras chave: adubação verde, *Cajanus cajan* (L.) Millsp, *Crotalaria spectabilis* Roth, fixação biológica de nitrogênio, leguminosas.

NUTRITION AND NITROGEN AVAILABILITY IN ORGANIC MAIZE INTERCROPPED WITH DIFFERENT DENSITIES OF FABACEAS

Author: LEILA BONFANTI

Adviser: Prof^a. Dr^a. ANASTÁCIA FONTANETTI

Co-adviser: Dr. ADEMIR DURRER BIGATON

ABSTRACT

The intercropping corn with green manures of the Fabaceae family has been studied as an alternative to supply nitrogen (N), via biological fixation (NBF). Increasing soil organic matter contents and nutrient cycling. However, the Fabaceae species and its density in the intercrop alters the competition pattern and demanding studies to optimize the intercrop between Fabaceae and corn. Therefore, this work aimed to evaluate N availability in the soil, growth, nutritional state and grains yield of corn intercropped with different densities of *Crotalaria spectabilis* Roth and *Cajanus cajan* (L.) Millsp in organic system. The study was conducted on crop year of 2017/18, at UFSCar/Araras, SP. Experimental design was of randomized blocks with four repetitions. Treatments consisted of four corn intercrops with: MC5) *C. spectabilis* - 5 plants.m⁻¹; MG5 *C. cajan* - 5 plants.m⁻¹; MCG10) *C. spectabilis* and *C. cajan* - 10 plants.m⁻¹, five of each species; MCG6) *C. spectabilis* and *C. cajan* - 6 plants.m⁻¹, five of each species, and a lateral control treatment, M) monocultural corn, cultivated distancing six meters from the fabaceas. It was evaluated corn leaf area index (IAF), dry matter (MS) and Falker chlorophyll index (ICF), at phenological stages V4, V8 and VT; leaf micronutrients contents at VT and yield at R6. For the fabaceas, dry mass (MSF) was accessed at corn stages of V4, V8, Vt and R6 and nutrient accumulation at R6. To nitrogen accessible was analyzed by NH₄⁺ and NO₃⁻ quantification of *nifH* gene in the soil, at corn phenological stages of V2, V4 and VT. It was observed reduction in grains yield of corn in increases of fabaceas density in intercrops (MCG10), as the pigeon-pea (MG5), because maximized competition interspecific. On the other hand, the intercrop with *C. spectabilis* (MC5) increased corn dry matter. For the nutritional state the intercrops with fabaceas (MCG6, MG5 and MC5) increases corn phosphorus and potassium leaf content and, increases in fabaceas density in intercrops (MCG10) maximized in nutritional competition, decreases corn phosphorus, potassium and sulfur contents. Not observed increases in corn nitrogen leaf content in presence fabaceas. It nitrogen access in the soil, simultaneous intercropping of *C. spectabilis* and *C. cajan* with corn (MCG6) reduces soil contents of ammonium and nitrate but increases corn ICF in comparison others intercrops, indicating nitrogen absorption in the soil by corn plants. Greater fabaceas dry matter amounts increases *nifH* gene quantity in the soil.

Keywords: *Cajanus cajan* (L.) Millsp; *Crotalaria spectabilis* Roth; Green manuring; leguminous; Nitrogen Biological Fixation.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é hoje o terceiro maior produtor mundial de milho (atrás de Estados Unidos e China), com produção prevista para a primeira safra 2018/19 de 27,5 milhões de toneladas de grãos, a qual, somada com a segunda safra, poderá alcançar 91,2 milhões de toneladas (CONAB, 2019).

Considerada a segunda cultura mais importante do cenário agrícola nacional, o milho é um produto de elevada versatilidade, sendo utilizado para rações animais, produção de etanol, silagem e alimentação humana, com demanda mundial contínua e crescente (BRASIL, 2018).

De acordo com dados do Conselho Brasileiro de Produção Orgânica e Sustentável, também é crescente a procura por produtos advindos do sistema orgânico, que em 2018 no Brasil, aumentou aproximadamente 20% em relação ao ano anterior (CAETANO, 2018). A produção de milho orgânico tem elevada importância para as cadeias produtivas da pecuária em sistema orgânico, pois, a legislação vigente (Instrução Normativa nº 46 de 06 de outubro de 2011) estabelece que no sistema de produção orgânico animal, a alimentação deve ser oriunda da própria unidade de produção ou de outro sistema sob manejo orgânico, podendo ser utilizados alimentos não orgânicos no limite de 15% da matéria seca total para espécies ruminantes e 20% da matéria seca total para não ruminantes (BRASIL, 2011).

Atualmente, existem 17.214 registros de unidades produtoras de orgânicos no Brasil, 2.171 apenas no estado de São Paulo (MAPA, 2018). O Brasil possui 3.535 unidades de produção orgânicas registradas para o cultivo do milho, sendo 654 unidades no estado de São Paulo (MAPA, 2018). Contudo, para a cultura do milho, há poucas informações quanto a área plantada e a produtividade desse cereal no sistema orgânico. No âmbito mundial, em 2016, os cereais orgânicos ocupavam 4,1 milhões de hectares, sendo 11% destinado a produção de milho grão (WILLER; LERNOUD, 2018).

Assim, aumentar a produção e a produtividade de grãos de milho orgânico e manter a regularidade de oferta, faz-se fundamental para atender a demanda atual (FONTANETTI; SANTOS; GALVÃO, 2012; COELHO, 2014).

Dentre os principais desafios tecnológicos para a produção de milho em sistema orgânico destacam-se a otimização no uso de fertilizantes orgânicos, em especial os nitrogenados, o manejo das plantas espontâneas e o acesso à cultivares de milho modernas, não transgênicas, apropriadas aos sistemas orgânicos (FONTANETTI; SANTOS; GALVÃO, 2012). Müller et al. (2017) relatam que o aumento das áreas de produção orgânica, independente das culturas, terá como provável desafio o suprimento de N. Os mesmos autores sugerem como estratégias, otimizar o manejo das fabáceas (leguminosas), ampliar as fontes de resíduos orgânicos utilizados atualmente e, melhorar a eficiência no uso do nutriente.

Neste cenário, o consórcio de milho com fabáceas, pode atuar como complemento aos fertilizantes nitrogenados e como ferramenta para a melhoria da qualidade dos solos (CALEGARI, 2014). As fabáceas aportam N ao sistema pela fixação biológica de nitrogênio (FBN), em associação com bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*, por meio da enzima nitrogenase, que reduz o N atmosférico (N_2) a NH_3 (amônia) (NOVAKOWISKI et al., 2011). O aporte em formas mais assimiláveis pelas plantas, amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) pode ocorrer pela decomposição dos nódulos ou excreções de compostos nitrogenados pelas raízes (forma direta) e, ou, pela ciclagem de nutrientes após a decomposição da matéria vegetal das fabáceas (forma indireta) (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016).

No entanto, ainda existe resistência por parte dos agricultores, em utilizar-se da prática da adubação verde, pois, a produção exclusiva desses, ocupa o espaço

destinado a cultura econômica (KAPPES; ZANCANARO, 2015). Assim, tem se difundido o consórcio do milho com as fabáceas.

O milho por apresentar elevada altura de plantas e de inserção das espigas, e maior taxa de acúmulo de matéria seca nos estádios iniciais de desenvolvimento, possui elevada capacidade competitiva em sistemas consorciados (GARCIA et al., 2013).

Dentre os consórcios de milho com espécies da família Fabaceae, destacam-se o guandu-anão (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) e a crotalária (*Crotalaria spectabilis* Roth), empregadas no Sistema Santa Brígida. Neste sistema, os adubos verdes são semeados simultaneamente ao milho, na mesma linha, na densidade de 4 a 5 plantas por metro linear ou de 8 a 10 plantas m⁻² (OLIVEIRA et al., 2010). Os autores recomendam a semeadura das fabáceas misturadas ao fertilizante quando em espaçamento reduzido e a adição de uma fileira das fáceas na entrelinha do milho para espaçamentos entre 0,8 a 1,0 m (OLIVEIRA et al., 2010).

O objetivo do sistema é viabilizar a prática da adubação verde em médias e grandes áreas produtoras de grãos, proporcionar o aporte de N ao sistema, via FBN e, reduzir o uso de fertilizantes minerais aplicados. Além de promover a produção e diversificação da palhada para o Sistema de Plantio Direto (SPD) e o controle de nematoides (OLIVEIRA et al., 2010).

Contudo, o manejo dos sistemas consorciados é complexo, pois, as características morfológicas, ecofisiológicas e as exigências nutricionais das espécies envolvidas, influenciadas pelas condições climáticas e a fertilidade do solo, determinam o seu sucesso (PARIZ et al., 2011). Sabe-se que a densidade, o arranjo de planta, a escolha das espécies e as características ambientais, alteram os padrões de competição entre as espécies consorciadas e minimizam ou, excluem a competição interespecífica (KAPPES; ZANCANARO, 2015).

Assim, entende-se necessário compreender a dinâmica do nitrogênio (N) nos sistemas consorciados de milho com as fabáceas, de forma a auxiliar na recomendação de espécies e densidades de plantas mais eficientes no aporte de N. Não obstante, é necessário evitar a competição interespecífica, aumentando a eficiência energética da adubação nitrogenada com a otimização da FBN, de modo a reduzir o custos com insumos e aumentar a sustentabilidade dos sistemas orgânicos. Diante do exposto, foram formuladas as seguintes hipóteses:

i) A espécie e a densidade de fabáceas no consórcio com o milho podem minimizar a competição interespecífica.

ii) O consórcio simultâneo de *Cajanus cajan* e *Crotalaria spectabilis* com o milho pode otimizar a FBN e aumentar a disponibilidade de nitrogênio no solo.

iii) O aumento da FBN e da disponibilidade de N no solo no consórcio, podem potencializar a absorção de N pelo milho durante o mesmo ciclo produtivo.

2 OBJETIVOS

Avaliar a disponibilidade de nitrogênio no solo, estado nutricional e produtividade de milho em consórcio com diferentes densidades de *Crotalaria spectabilis* Roth e *Cajanus cajan* (L.) Millsp no sistema orgânico

Objetivos Específicos

1. Para atender a hipótese I: Identificar as densidades das fabáceas (*Crotalaria spectabilis* Roth. e *Cajanus cajan* (L.) Millsp) no consórcio com o milho, em sistema orgânico, que não interfiram no crescimento e na produtividade de grãos do milho, reduzindo ou inibindo a competição interespecífica em consórcio.

2. Para atender a hipótese II: Avaliar a contribuição dos consórcios de milho com fabáceas (*Crotalaria spectabilis* Roth e *Cajanus cajan* (L.) Millsp) em diferentes densidades de plantas, na fixação biológica de nitrogênio (quantificação da expressão do gene *nifH*), no mesmo ciclo produtivo.

3. Para atender a hipótese III: Avaliar a contribuição dos consórcios de milho com fabáceas (*Crotalaria spectabilis* Roth e *Cajanus cajan* (L.) Millsp) em diferentes densidades de plantas quanto a disponibilidade de nitrogênio (Amônio e Nitrato) no solo, correlacionando os resultados com o teor de nitrogênio foliar, crescimento e produtividade de grãos do milho, no mesmo ciclo produtivo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Caracterização das fabáceas

***Cajanus cajan* (L.) Millsp cv. IAPAR 43**

O guandú tem sua origem controversa, entre o continente Africano e o Asiático (Índia). Caracteriza-se como uma espécie resistente ao déficit hídrico, com elevada adaptabilidade aos solos de baixa fertilidade, com textura argilosa ou arenosa, possui alta resposta às adubações e elevada produção de fitomassa (WUTKE; CALEGAR; WILDNER, 2014), porém apresenta lento crescimento inicial (CALVO et al., 2010).

O ciclo do *C. cajan* pode alcançar 80 dias entre as variedades anãs e 180 dias para as variedades normais (FORMENTINI et al., 2008; PENTEADO, 2010) e, sua altura é modificada em função das variedades e das características edafoclimáticas locais. Plantas com até 0,70 m são consideradas baixas, entre 0,70 e 1,50 m médias e acima de 1,50 m são classificadas como altas, podendo atingir 4 m de altura (PASSOS, 2007).

As variedades normais podem produzir até 40 t ha⁻¹ ano⁻¹ de matéria verde, enquanto as anãs 20 t ha⁻¹ ano⁻¹ (FORMENTINI et al., 2008). A cultivar anã IAPAR 43, utilizada no presente trabalho, tem a produção de matéria seca mínima variando entre 4 a 7 t ha⁻¹ ano⁻¹ (BRSEEDS, 2018) e máxima de 10 a 12 t ha⁻¹ ano⁻¹ (WOLF SEEDS, 2018).

A espécie possui elevada importância para os países tropicais e subtropicais por exercer múltiplas funções nas unidades agrícolas, como: alimentação animal (nas formas de silagem, feno, pastejo ou grãos) e também para a alimentação humana (RAYOL; ALVINO-RAYOL, 2012; ROCHA; RIBEIRO; SILVA, 2017), adubação verde para recuperação de áreas degradadas e melhoria das características químicas, físicas e biológicas do solo e ainda, como planta antagonista/armadilha para a redução e controle de fitonematóides em áreas cultivadas (INOMOTO et al., 2006 e RITZINGER; FANCELLI, 2006).

Como adubo verde, o guandú é largamente utilizado, principalmente devido ao seu sistema radicular profundo, que pode alcançar facilmente os 3 m de comprimento, capaz de romper as camadas compactadas de solo (FERRARI NETO et al., 2012; PASSOS, 2007). Como também, devido ao efeito na supressão de plantas espontâneas, seja de forma generalista, por abafar as invasoras e/ou de forma específica, devido ao efeito alelopático inibidor sobre a espécie *Bidens pilosa* L. (picão preto) (SILVA et al., 2007).

A espécie pode aportar entre 120 a 354 kg ha⁻¹ ano⁻¹ de nitrogênio via fixação biológica (FBN) (MOREIRA et al., 2014). O guandú apresenta raízes secundárias localizadas nos primeiros 0,30 m de profundidade do solo, onde estão os nódulos que contém bactérias do gênero *Rhizobium*, responsáveis pela FBN (FORMENTINI et al., 2008).

Ae et al. (1990) também relataram a presença de compostos fenólicos (como o ácido piscídico) nas raízes de guandú, o qual quelata o Fe e disponibiliza o fósforo (P) na solução do solo. Os exsudatos radiculares do guandú são capazes de dissolver o fosfato contido nas rochas do solo, tornando-o disponível para as culturas (AE et al., 1990). Queiroz (2006) afirmou, que o guandu é uma espécie pouco exigente em fósforo, atribuindo tal capacidade a eficientes associações micorrízicas, de forma a manter elevada produtividade de matéria seca mesmo em solos com reduzidos teores de P.

A época de semeadura recomendada para o cultivo exclusivo do guandú vai de outubro a janeiro (OLIVEIRA et al., 2010). A semeadura tardia, reduz a produção de matéria seca, pois a maioria dos materiais genéticos é sensível ao termoperíodo e fotoperíodo e reduzem o seu ciclo vegetativo (AMABILE et al., 2008).

Lovadini e Mascarenhas (1974), na região de Campinas, avaliaram a semeadura de guandú mensalmente, entre outubro a março e verificaram variação

quanto ao número de dias entre a emergência das plântulas e o início do florescimento, indicando 177 dias para semeadura em outubro e 91 dias para a semeadura em março.

A densidade de sementes indicada para a espécie objetivando a produção de forragem e recuperação de áreas degradadas é de 10 sementes por metro linear espaçadas a 0,25 m entre si, de forma que a espécie acumule o máximo de matéria verde em menor tempo (GODOY; SANTOS, 2011). Para silagem, deve-se utilizar o espaçamento de 0,35 m nas entrelinhas e 18 sementes por metro linear e, quando, para corte ou fenação, deve-se utilizar a densidade 18 sementes e o espaçamento de 0,30 a 0,40 m nas entrelinhas (SILVA, 2009).

Para adubação verde exclusiva com guandú cv. IAPAR 43 recomenda-se a semeadura de 18 a 20 sementes por metro linear com espaçamento entre as linhas de 0,50 m (PIRAÍ SEMENTES, 2018).

Já no consórcio de milho com guandú, Wutke, Calegari e Wildner (2014) recomendaram a semeadura da fabácea quando o milho atingir o estágio fenológico de quatro a seis folhas expandidas. No entanto, o Sistema Santa Brígida, o qual realiza a semeadura concomitante ao milho, os adubos verdes (*C. spectabilis* e *Cajanus cajan*) são recomendadas as densidades de 4 a 5 plantas por metro linear ou de 8 a 10 plantas metro quadrado (OLIVEIRA et al., 2010).

***Crotalaria spectabilis* Roth**

Originária da Ásia Central a *Crotalaria spectabilis* é uma espécie de ciclo anual, porte ereto e arbustivo, podendo atingir até 1,50 m de altura. A época de semeadura recomendada vai de outubro a abril e o florescimento varia entre 90 a 120 dias após a semeadura (SILVEIRA; RAVA, 2004; BRAZ et al., 2015). A espécie é sensível ao fotoperíodo, reduzindo o crescimento vegetativo em semeaduras tardias (AMABILE; FANCELLI; CARVALHO, 2000).

Nos sistemas de produção agrícola o gênero *Crotalaria* vem sendo empregado para a adubação verde, devido aos benefícios proporcionados como: o aporte de N (via FBN), ciclagem de nutrientes, controle de nematóides e supressão de plantas espontâneas (GARCIA et al., 2013; TIMOSSI et al., 2014; ABADE et al., 2016).

A espécie *C. spectabilis* é muito utilizada em consórcio com o milho, pois possui crescimento inicial lento, quando comparada com as outras espécies do

mesmo gênero, de forma a reduzir a competição interespecífica (KAPPES; ZANCANARO, 2015). Além disso, possui resistência ao déficit hídrico e sombreamento e, boa capacidade de desenvolvimento em solos com deficiência de P e cálcio (Ca) (BURLE et al., 2006).

Dentre as espécies do mesmo gênero, a *C. spectabilis* é a com menor produção de matéria seca, entre 4 a 6 t ha⁻¹ ciclo⁻¹, com fixação biológica de nitrogênio variando entre 60 a 120 kg ha⁻¹ de N (FORMENTINI et al., 2008). Em média 70% do N total absorvido pela *C. spectabilis* advém da FBN (GILLER, 2001).

Apesar da reduzida produção de matéria seca, a *C. spectabilis* pode diminuir o número de plantas e acúmulo de biomassa da tiririca (*Cyperus rotundus*) (ARAÚJO et al., 2015).

A densidade de semeadura estabelecida para a *C. spectabilis* em cultivos exclusivos é de 15 a 20 sementes por metro linear em espaçamento de 0,25 a 0,50 m (BARRETO; FERNANDES, 2001). De acordo com Fernandes; Barreto e Emídio Filho (1999) a *C. spectabilis* aumenta a produção de matéria seca da parte aérea em cultivos com maior adensamento populacional.

Já para cultivos em consórcio com o milho, o Sistema Santa Brígida, determina a densidade de 4 a 5 plantas por metro linear para os adubos verdes (*C. spectabilis* e *Cajanus cajan*) que são cultivados simultaneamente ao milho (OLIVEIRA et al., 2010).

3.2 Demanda de nutrientes pelo milho

O milho é uma planta com elevada demanda nutricional e, conhecer as épocas de maior exigência e absorção de cada elemento, nas diferentes fases de desenvolvimento da planta, faz-se de fundamental importância (RITCHIE et al., 2003). Para definir a melhor estratégia de manejo de adubação, maximizar a absorção de nutriente pela cultura e reduzir as perdas do sistema, principalmente tratando-se da adubação nitrogenada (SILVA, 2016).

As necessidades nutricionais do milho são determinadas em função da quantidade de nutrientes que é extraída ao final do seu ciclo (seja para a produção de grãos, milho verde ou forragem) e, a quantidade de nutrientes extraída, por sua vez, depende do acúmulo de nutrientes na planta (BÜLL et al., 1993).

A absorção de nutrientes pelo milho no início do ciclo é mínima, pois as reservas contidas nas sementes são suficientes para atender a demanda da planta.

Assim, durante as três primeiras semanas após a semeadura, os nutrientes contidos na semente são mobilizados e translocados para as raízes e a parte aérea do cereal (SILVA, 2016).

O milho absorve nutrientes durante todo o seu ciclo, no entanto, em diferentes velocidades de absorção, que podem ser afetadas pelas condições climáticas, cultivar, tipo de manejo, tecnologia empregada, disponibilidade de nutrientes no solo e sistemas de cultivos (ANDRADE et al., 1975; BÜLL, 1993).

Sabe-se que o milho apresenta dois diferentes períodos de intensa velocidade de absorção de nutrientes: o primeiro, aproximadamente em V4 (quatro folhas totalmente expandidas), estágio no qual o potencial de grãos do milho está sendo definido, e o segundo, durante a fase reprodutiva, na formação da espiga, atingindo o potencial produtivo (BÜLL, 1993).

De acordo com Büll (1993), que avaliaram as curvas de absorção de nutrientes para cinco cultivares de milho, o pico de absorção do N ocorre aos 80 dias após a germinação do milho e a quantidade requerida é de 180 Kg ha⁻¹. Para P e K, o pico de absorção ocorre entre 80 a 100 e 75 dias, respectivamente, após a germinação da cultura e, as quantidades requeridas são de 30 Kg ha⁻¹ para P e 218 Kg ha⁻¹ para K. Para Ca, Mg e S, o mesmo autor descreve picos de absorção entre 80 a 90 dias, com demandas de 34 Kg ha⁻¹ para Ca e Mg e 35 Kg ha⁻¹ para S. No entanto, sugere-se novos estudos que abordem a capacidade de extração e acúmulo de nutrientes para as cultivares de milho e os sistemas de manejo adotados atualmente (SILVA, 2016; BORGES, 2006).

Particularmente, o N é um dos nutrientes com maior influência no aumento da produtividade de milho, pois é constituinte de proteínas, interferindo diretamente no processo fotossintético da planta (ANDRADE et al., 2003). Folhas bem nutridas de N resultam no aumento da taxa de fotossíntese, por meio da assimilação de CO₂ e síntese de carboidratos, resultando no maior acúmulo de biomassa (BENDER et al., 2013).

Segundo Arnon (1975), a demanda do milho por N aumenta com o crescimento da cultura, alcançando picos de máxima exigência entre o início do florescimento e o início da formação de grãos. O autor complementa ainda que, o conteúdo percentual de N em plantas jovens é superior que em outras fases vegetativas da cultura, embora, quantitativamente menor em função do pequeno porte das plantas.

Büll (1993), apontou máxima exigência de N aos 60 dias após a emergência do milho, próximo ao estágio VT (pendoamento) do milho. Já Von Pinho et al. (2009), observou pequenos acúmulos de N nos estádios iniciais de desenvolvimento do milho, com elevado acúmulo a partir de V8 (oito folhas completamente expandidas) e posterior redução nas fases próximas ao florescimento.

A redução do acúmulo de N no milho, quando entre o estágio de florescimento feminino e a formação de grãos, sugerem perdas de N do colmo, durante a translocação do nutriente das folhas mais baixas para os grãos ou, provavelmente, devido o desprendimento de grãos de pólen. Já quando as perdas de N ocorrem nos estádios vegetativos finais da cultura, sugere-se perdas por volatilização nas trocas gasosas de NH_3 através das folhas, devido o aumento da proteólise durante a senescência da cultura (BORGES, 2006).

Silva (2016) observou ainda, que a cultura do milho possui a capacidade de absorção mais tardia de N, quando na elevada presença do nutriente. O mesmo autor verificou translocação de N das folhas e do colmo para os grãos, na ordem de 50% até o final do ciclo do milho. Valor abaixo da literatura, que indica porcentagens de 65 a 75% do total extraído pela cultura (VASCONCELLOS et al., 1998).

Quanto a extração de N pelo milho, Fancelli e Tsumanuma (2007) encontraram valores na ordem de 15 a 20 Kg de N por cada tonelada de grãos produzida. Dados semelhantes foram verificados por Von Pinho et al. (2009) que estimaram extração total de N entre 216 e 362 Kg ha^{-1} para produtividades de grãos entre 10 a 14 t ha^{-1} .

Para o P, a absorção ocorre até o final do ciclo do milho, com pico na fase reprodutiva, cerca de 80 dias após a semeadura (ANDRADE et al., 1975; BÜLL, 1993). Ritchie et al. (2003) indicam que para cada tonelada de grãos produzida, sejam exportados cerca de 9 Kg ha^{-1} de P_2O_5 . Dados que discordam de Padilha (2015), que em alto nível tecnológico, observou exportação média de 55 Kg ha^{-1} de P_2O_5 para produtividade de 13 t ha^{-1} de grãos.

O K é o segundo nutriente mais exigido pelo milho e, possui vários picos de absorção durante o ciclo da cultura, alcançando valores médios de absorção maiores que o N nos estádios iniciais da cultura (BORGES, 2006). Para Büll (1993) a absorção de K ocorre até o pleno florescimento da cultura, quando o mesmo é lavado das folhas de milho e retorna ao solo para absorção de culturas sucessoras.

O mesmo autor indica que o milho chega ao fim do seu ciclo com cerca de 70% de todo o K extraído do solo.

Von Pinho et al. (2009) sugere que para cada tonelada de grãos produzida, sejam extraídos cerca de 18 a 30 Kg de K₂O por hectare.

Os nutrientes Ca, Mg e S são extraídos em pequenas quantidades pelo milho. Estima-se extrações na ordem de 16 e 32 Kg ha⁻¹ de Ca e Mg (VASCONCELLOS et al., 1998), com elevada exigência de Ca no florescimento e na maturidade fisiológica e, maior exigência de Mg no final do ciclo do milho (VON PINHO et al., 2009).

Para o S, Büll (1993) indica extrações de 30 a 42 Kg ha⁻¹ durante todo o ciclo da cultura, com maior período de absorção na fase vegetativa. Estes dados discordam de Von Pinho et al. (2009) que observaram maior demanda pelo nutriente na fase reprodutiva do milho.

3.3 Manejo da competição interespecífica no consórcio de milho com fabáceas

O manejo dos sistemas consorciados é complexo, devido as relações interespecíficas estabelecidas, que podem aumentar a competição e quando não manejadas, inviabilizar o sistema (SILVA et al., 2015).

Para que ocorra a competição por água e nutrientes entre as espécies, há a necessidade de duas condições prévias: as raízes de plantas vizinhas devem se sobrepor na área de absorção de nutrientes e água e, a quantidade de nutrientes no solo deve ser insuficiente para sustentar o desenvolvimento de todo o sistema (ZANINE; SANTOS, 2004). Quanto a competição pela energia luminosa, esta resulta da divisão da radiação solar incidente sobre as plantas, que será determinada pela altura, forma de distribuição das folhas no espaço e pela eficiência de interceptação e absorção (TEIXEIRA; MOTA; SILVA, 2005).

Assim, analisar as características morfológicas, ecofisiológicas, e as exigências pelos fatores de produção das espécies consorciadas são de extrema importância, pois alteraram os padrões de competição (PARIZ et al. 2011). No consórcio, as espécies preferencialmente devem diferir quanto ao volume de solo explorado pelas raízes, velocidade de crescimento (TEODORO et al., 2011) e a, exigência nutricional (KAPPES; ZANCANARO, 2015).

Em relação ao volume de solo explorado, a raiz pivotante do guandú-anão atinge profundidades de solo superior a 0,30 m, já as crotalárias são mais sensíveis

a compactação do solo e concentram suas raízes na superfície (REINERT et al., 2008). A profundidade do sistema radicular do milho varia de 0,40 a 0,50 m (ALBUQUERQUE; RESENDE, 2002).

A velocidade de crescimento das espécies no consórcio também pode reduzir a competição interespecífica. O guandu-anão atinge seu máximo crescimento aos 60 DAS (dias após a semeadura), reduzindo posteriormente e, a crotalária-júncea concentra o máximo crescimento até os 40 dias, reduzindo-o entre 40 - 60 DAS, momento em que retoma o crescimento (TEODORO et al., 2011; AMABILE et al., 2000). Kappes e Zancanaro (2015) descreveram a *C. spectabilis* como uma espécie de crescimento inicial lento e de porte baixo, caracterizando-a como potencial espécie para o consórcio com o milho.

Gitti et al. (2012) estudando o cultivo das crotalárias (*C. spectabilis* e *C. juncea*) nas entrelinhas do milho, na densidade de 30 sementes m^{-1} em diferentes épocas de semeadura observaram que a utilização da *C. spectabilis* semeada simultaneamente e nos estádios V4 e V7 do milho, aumentaram a produção de matéria seca total do consórcio e não interferiram na colheita mecanizada e na produtividade de grãos da poacea.

As exigências e, ou as interações nutricionais entre as espécies envolvidas, podem minimizar a competição no consórcio e potencializar o sinergismo. Por isso, faz-se de fundamental importância conhecer as épocas de maior exigência e absorção de cada nutriente pelas espécies consorciadas. Além das características intrínsecas das espécies, a densidade e arranjo de plantas de milho e fabáceas podem alterar os padrões de competição no consórcio.

Para a determinação da densidade ideal das fabáceas em consórcio com o milho, Perin et al. (2007) avaliaram diferentes densidades populacionais de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* DC.) em consórcio com o milho no sistema orgânico e verificaram que a densidade de até seis plantas m^{-1} de feijão-de-porco, não reduziu a produtividade do milho.

Ramos e Ramos-Júnior (2018) consorciando milho com *C. spectabilis*, na densidade de 10, 20, 30 e 40 kg de sementes m^{-2} com semeadura a lanço, não observaram influência nos parâmetros avaliados (estande final de plantas de milho e crotalária, massa média da espiga sem palha e de grãos por espiga, número médio de fileiras e de grãos por fileira, massa média de 100 grãos e a produtividade de

grãos de milho). Os autores justificam que os incrementos advindos do uso das fabáceas tendem a serem observados nos cultivos subsequentes.

Quanto ao fator arranjo de plantas, Gallo et al. (2017) afirmaram que a presença das fabáceas na mesma linha de plantio e/ou na entrelinha de plantio do milho, podem minimizar ou aumentar a competição por nutrientes entre as espécies

Gallo et al. (2017) avaliando diferentes arranjos de guandú-anão em consórcio com o milho em sistema orgânico, observaram incrementos de N no tratamento com a fabácea na linha e duas linhas na entrelinha do milho. De acordo com os autores, o maior número de plantas de guandu-anão no consórcio acarretou maior aporte de N via FBN, o que pode ter favorecido a absorção desse nutriente pelas plantas de milho.

Porém, Oliveira (2010) em sistema convencional identificou comportamentos diferentes no crescimento da crotalária (*C. spectabilis* Roth) e do guandú-anão (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) cultivados na linha e entrelinha do milho. Ambas fabáceas apresentaram maiores médias de matéria seca da parte aérea quando semeadas na linha de cultivo do milho. A autora justifica o resultado em função de um possível beneficiamento dessas espécies pela adubação do milho.

Por outro lado, Oliveira et al. (2011) relatou que quando semeado na linha de cultivo do milho, o guandú-anão apresentou menor produção de matéria seca, atribuindo o resultado ao elevado potencial competitivo da poácea e ao lento crescimento inicial da fabácea.

Diante do exposto, vê-se como fundamental a realização de estudos que se avaliem o comportamento dos consórcios entre milho e fabáceas em diferentes densidades, quanto aos possíveis benefícios no uso das fabáceas.

3.4 Fixação biológica de nitrogênio no solo em cultivos consorciados de milho com fabáceas

O N é o nutriente mais exigido pelo milho e cerca de 75% deste, é exportado nos grãos (COELHO, 2006). Além disto, este nutriente é o mais oneroso no para o custo de produção do milho, correspondendo a 54% dos custos totais de adubação e 29% dos custos com insumos nos cultivos convencionais (PANDOLFO, 2015).

Outro fator relevante é que a eficiência da adubação nitrogenada é de apenas 50 a 60% (KLUTHCOUSKI et al., 2006), com perdas de 25% por volatilização,

lixiviação e/ou desnitrificação e 25% em formas estáveis no solo (AMBROSANO et al., 1997). Essas perdas podem ser amortizadas pela fixação biológica de nitrogênio (FBN), porém nos sistemas convencionais de produção, com adubos minerais, esta reposição é mínima ou irrisória (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016).

Na agricultura orgânica, o problema persiste, pois, os fertilizantes orgânicos apresentam baixas concentrações de nutrientes, principalmente N, fato que implica no uso de elevados volumes, onerando os custos com transporte e aplicação (COELHO et al., 2016).

Soma-se a isto, que Fernandes; Uhde; Wunsch (2007) ao avaliarem a fertilidade dos solos em áreas de produção orgânica de grãos (soja/soja/milho safra e milho safrinha) identificaram um déficit de 150 Kg ha⁻¹ de N, por ser o elemento exportado em maior quantidade em relação aos demais.

Müller et al. (2017) destacaram também que, o aumento das áreas de produção orgânica terá como desafio o suprimento de N. Os autores sugerem como estratégias: a otimização do manejo das fabáceas, ampliação das fontes de resíduos orgânicos utilizados e, melhoria da eficiência no uso dos nutrientes.

Nesse cenário, o interesse pela adubação verde, principalmente com fabáceas (leguminosas) tem aumentado entre os produtores de grãos, tanto no sistema orgânico como no convencional (GIACOMINI et al., 2004). Destaca-se a consorciação do milho com guandu-anão (*C. cajan*) e, ou, com crotalária (*C. spectabilis*), empregados no Sistema Santa Brígida (OLIVEIRA et al., 2010).

Hodtke et al. (1997) afirmam que as fabáceas em consórcio com o milho podem contribuir com o fornecimento de 83% do N exportado pelos grãos. As fabáceas proporcionam o aporte de N por meio de associações simbióticas com bactérias quimiorganotróficas, fixadoras de nitrogênio (e.g. gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*) (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016). Caracterizada pela existência de microrganismos simbióticos localizados no interior dos nódulos, os quais promovem a FBN em condições anaeróbicas (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016).

Chamadas também de bactérias diazotróficas, estas utilizam de maquinaria bioquímica semelhante para realizar a FBN, sendo a enzima nitrogenase, responsável pela redução do nitrogênio atmosférico (N₂) à NH₃ (amônia) (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016). A nitrogenase depende dos micronutrientes molibidênio (Mo) e ferro (Fe) para seu efetivo funcionamento,

codificando genes *nifH*, indicador do processo de FBN (REED; CLEVELAND; TOWNSEND, 2011).

Para o processo de formação dos nódulos, ocorre a liberação de flavanóides e isoflavanóides, entre outras substâncias pelas raízes das fabáceas. Essas substâncias são reconhecidas pelas bactérias diazotróficas que passam a expressar genes de nodulação (*nod*). Estes, são responsáveis pela indução das modificações necessárias na planta e em suas raízes, como a expressão dos genes vegetais que codificam as nodulinas (proteínas essenciais para a formação dos nódulos) e, a curvatura dos pelos radiculares (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016).

Por fim, as nodulinas (precoces e tardias), atuam na formação estrutural e, no metabolismo e manutenção do nódulo. Como por exemplo de nodulinas tardias, a leg-hemoglobinas é responsável pelo transporte de oxigênio nos nódulos e, não permite a presença de oxigênio livre neste ambiente. Portanto, esta nodulina viabiliza a atividade da nitrogenase, visto que, a enzima é inativada na presença de O₂ (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016).

Em geral, nos sistemas consorciados o efeito nutricional da adubação verde tem sido observado nas safras subsequentes. Heinrichs et al. (2002), ao avaliarem a produção e o estado nutricional da cultura de milho em cultivo intercalar com adubos verdes (*Mucuna deeringiana*, *Cajanus cajan*, *Crotalaria spectabilis* e *Canavalia ensiformes*), não encontraram diferenças significativas para o teor de N foliar do milho no primeiro ano de cultivo. Também, Heinrichs et al. (2005) não observaram incremento na produtividade do milho em consórcio com *C. spectabilis*, mas inferiram que a maior produção de matéria seca durante no consorcio aumentou a disponibilidade de nutrientes para o milho, principalmente o N, na safra posterior.

Durante o consórcio o N-FBN pode ser absorvido pelas plantas de milho, pela excreção direta de compostos nitrogenados (PEREIRA et al., 2011); pela decomposição de nódulos e raízes (COSTA; SILVA, 2008; FUSTEC et al., 2010, PEREIRA et al., 2011); pela conexão por micorrizas nas raízes da poácea com as raízes da fabácea (VAN DER HEIJDEN; HORTON, 2009); pela decomposição de restos de raízes e nódulos das fabáceas (BARCELLOS et al., 2008) ou pela reabsorção do N volatilizado (NH₃) ou lixiviado (NO₃⁻) das folhas das fabáceas, pelas folhas da poácea (DENMEAD et al., 1976).

Os mecanismos que podem afetar essa relação simbiótica entre planta-microrganismo ainda estão sendo investigados, mas sugere-se que as condições do

solo como temperatura elevada, pH ácido ou alcalino ao extremo, produtos fitossanitários, baixa fertilidade, e maior presença de N mineral, contribuam para reduzir a eficácia da FBN (CASSETARI; SILVA; CARDOSO, 2016).

Ambrosano (1995) utilizando a matéria seca de *Crotalaria juncea* e mucuna-preta (*Mucuna pruriens* (L.) DC) cultivadas em vasos e marcadas com ¹⁵N, determinou que entre 60 a 80% do N das fabáceas permaneceu no solo, de 20 a 30% foi absorvido por plantas de milho e de 5 a 15% deixou o sistema solo-planta.

Ambrosano et al., (2009) cultivaram milho em vasos adubados apenas com resíduos vegetais da parte aérea e da raiz de *C. juncea* ou de mucuna-preta (*Mucuna pruriens* (L.) DC) e observaram acúmulos de N na parte aérea do milho de 40 a 42,5% advindos da parte aérea e 4,8% a 8,7% derivados da raiz desses adubos verdes. Os autores concluem que a maior produção de matéria seca da parte aérea e conseqüentemente de acúmulo de N nas fabáceas, refletem em maior contribuição para a cultura subsequente.

Portanto, para a otimização da adubação nitrogenada em sistemas de cultivos orgânicos, faz-se necessário estudos que propiciem a compreensão do aporte de nitrogênio, via FBN, assim como a decomposição da matéria seca das fabáceas pelos microrganismos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Condução do experimento

4.1.1 Caracterização da área experimental

O experimento foi conduzido na safra 2017/18, em área experimental pertencente ao Departamento de Desenvolvimento Rural (DDR), localizado no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), no município de Araras, SP, situado a 690 m de altitude, sob as coordenadas geográficas de latitude 22°18'27,75" Sul e longitude 47°23'09,83" Oeste.

A área experimental vem sendo conduzida em sistema orgânico há nove anos. Nas safras de verão, cultiva-se milho em consórcio com adubos verdes. Desde então, já foram utilizados feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC) (2009/10, 2010/11 e 2011/12) e puerária (*Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth), soja perene (*Neonotonia wightii* (Wight & Arn.)) e calopogônio (*Calopogonium mucunoides* Desv.) (2013/14 e 2014/15). Nas entressafras, foram realizados cultivos exclusivos de adubos verdes, como aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.), crotalária (*Crotalaria ochroleuca*) e crotalária juncea (*Crotalaria juncea* L.). Na safra antecessora (2016/17) cultivou-se milho em consórcio com crotalária (*Crotalaria spectabilis* Roth) no verão, e aveia-branca (*Avena sativa* L.) no inverno.

Segundo a classificação de Köppen (1948), o clima da região é Cwa, tropical úmido, caracterizado por verões quentes e úmidos e invernos secos. As temperaturas mínima, média e máxima, a radiação global total e a precipitação média ocorridas durante a condução do experimento (novembro de 2017 a março de 2018) estão descritas na Tabela 1. E, os dados de precipitação pluviométrica, foram utilizados para confeccionar o balanço hídrico mensal, seguindo a metodologia de Rolim, Sentelhas e Barbieri (1998) (Figura 1).

Tabela 1. Dados de temperatura mínima, média e máxima ($^{\circ}\text{C}$) mensal, radiação global (MJ m^{-2}) total e média e, precipitação pluviométrica total (MM) observados durante a condução do experimento. Araras/SP, safra 2017/18.

Meses	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)			Radiação (MJ m^{-1})		Precipitação (mm)	
	Mínima	Máxima	Média	Total	Média	Total	Média
Nov. 2017	17,5	29,0	22,4	684,7	22,8	168,8	5,6
Dez. 2017	19,4	29,7	23,7	664,8	21,4	127,8	4,1
Jan. 2018	19,4	29,0	23,0	621,5	20,0	268,3	8,7
Fev. 2018	18,8	29,2	23,2	592,7	21,2	107,4	3,8
Mar. 2018	19,7	31,2	24,4	716,9	23,1	130,0	4,2

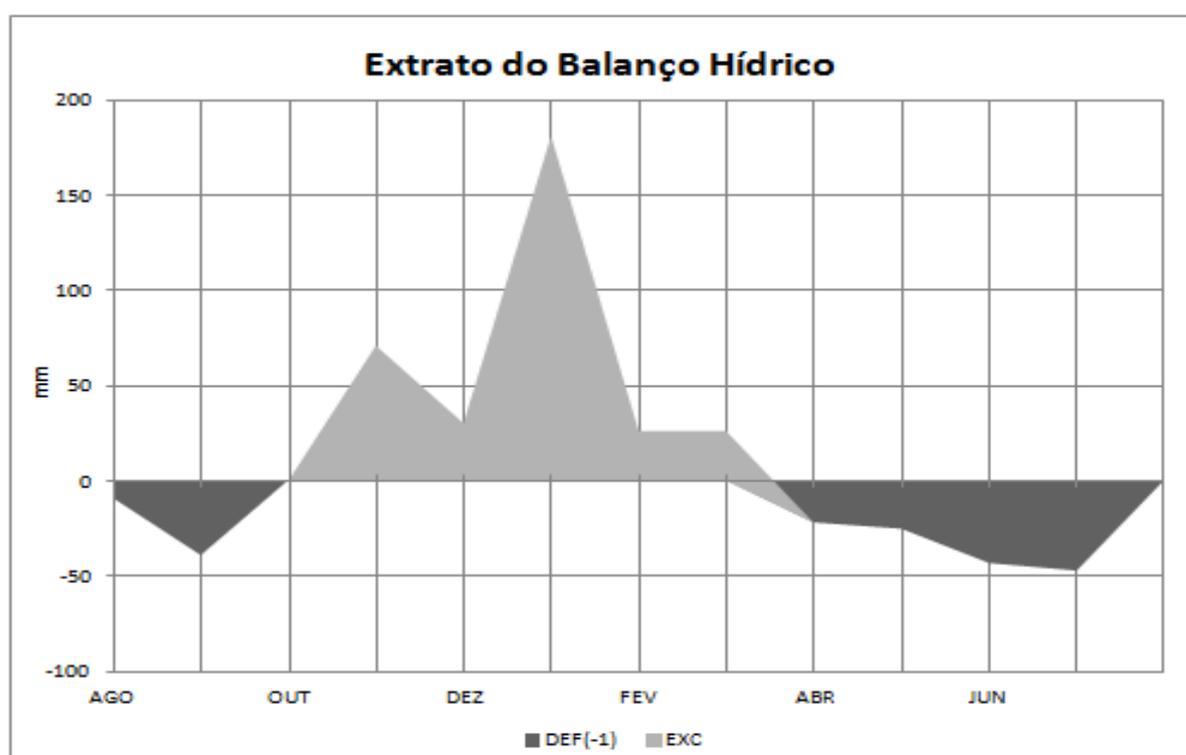


Figura 1. Balanço hídrico mensal do município de Araras/SP, para o período de agosto de 2017 a julho de 2018. Araras/SP, safra 2017/2018

O solo é classificado como Nitossolo Vermelho Distroférico latossólico de textura argilosa (YOSHIDA e STOLF, 2016). Para a caracterização química do solo, anterior a instalação do experimento, foram coletadas 10 subamostras de solo para cada uma das profundidades: 0 – 0,10 e 0,10 – 0,20 m. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas, compondo uma amostra composta por profundidade. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Análises Químicas de Solos e Plantas da Universidade Federal de São Carlos e os resultados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Características químicas do solo da área experimental. Araras/SP, safra 2017/18.

Profundidade e (cm)	P resina	MO	pH	K	Ca	Mg	H + Al	SB	CTC	V	S
	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	CaCl ₂	-----	-----	mmol _c dm ⁻³	-----	-----	-----	%	mg dm ³
0-10	39	37	5,4	4,3	34	11	16	49,3	65,3	75	9
10-20	31	35	5,8	3,8	43	16	19	62,8	81,8	77	7

4.1.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram quatro consórcios de milho com: (MC5) *C. spectabilis*, na densidade de 5 plantas m⁻¹; (MG5) *C. cajan*, na densidade de 5 plantas m⁻¹; (MCG10) *C. spectabilis* e *C. cajan*, na densidade de 10 plantas m⁻¹ (cinco plantas de cada fabácea); (MCG6) *C. spectabilis* e *C. cajan*, na densidade de 6 plantas m⁻¹ (três plantas de cada fabácea) e uma testemunha lateral: (M) milho solteiro, semeado à seis metros de distância das fabáceas, a fim de evitar possíveis influências de espécies fixadoras de N, conforme recomendação de Dias et al. (2007).

A parcela experimental foi formada por 5 linhas de milho com 5 m de comprimento e espaçamento de 0,70 m entre as linhas. As avaliações foram realizadas nas três linhas centrais, excluindo 0,5 m de cada extremidade.

4.1.3 Condução do experimento

De acordo com as características químicas do solo (Tabela 2) não houve necessidade de calagem (RAIJ et al., 1997). O preparo do solo foi realizado com uma operação de aração e uma de gradagem.

No dia 16 de novembro de 2017 foram semeadas a *C. spectabilis* e o guandú-anão cv. IAPAR 43 simultaneamente ao milho, na linha de plantio, com densidade de plantas adaptada de Oliveira et al. (2010), recomendada para o Sistema Santa Brígida. O milho intervarietal AGRICOM 340 foi semeado na densidade de 4,2 sementes por metro, visando a população de 60.000 plantas ha⁻¹.

A semeadura foi realizada com semeadora adubadora e, as sementes dos adubos verdes foram misturadas com 40 kg ha⁻¹ de vermiculita expandida e acondicionadas no compartimento de adubo.

A adubação do milho foi realizada no estágio V2 (duas folhas expandidas) do milho com composto orgânico comercial Visafertil®, na dose de 13 t ha⁻¹ de peso seco, objetivando atender a produtividade de grãos esperada de 6,0 - 8,0 t ha⁻¹. O composto orgânico foi colocado na superfície do solo, na linha de semeio do milho, com as seguintes características químicas, determinadas no Laboratório de Análises Químicas de Solos e Plantas da UFSCar: densidade 0,87 g cm⁻³; pH (em H₂O) = 8,0; C = 113,97 mg cm⁻³; N = 11,31 mg cm⁻³; P = 11,90 mg cm⁻³; K = 1,16 mg cm⁻³; Ca = 6,90 mg cm⁻³; Mg = 0,52 mg cm⁻³; S = 4,36 mg cm⁻³; Cu = 0,06 mg cm⁻³; Fe = 0,48 mg cm⁻³; Mn = 0,44 mg cm⁻³; Zn = 0,67 mg cm⁻³; matéria orgânica = 22,58 % e umidade = 37,40 % de acordo com Raj et al. (1997).

O controle das plantas espontâneas nas entrelinhas foi realizado nos estádios V5 (cinco folhas expandidas) e V8 (oito folhas expandidas) do milho com roçadeira de fio. Para o controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda* (Smith)) foram realizadas duas aplicações do inseticida biológico Dipel®, nos estádios V4 (quatro folhas expandidas) e V8 do milho, conforme recomendações do fabricante, na dose de 11 g ha⁻¹ do princípio ativo (*Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*).

A colheita das espigas localizadas nas três linhas centrais de cada parcela, foi realizada manualmente no estágio R6 (maturação fisiológica), com umidade média de 30,6% aos 136 dias após o plantio.

4.2 Avaliações

4.2.1 Análise de crescimento, teor de macronutrientes e produtividade de grãos de milho

4.2.1.1 Índice de área foliar (IAF)

Foram coletadas três plantas de milho por parcela nos estádios V4, V8 e VT (pendoamento). As plantas foram separadas em colmo, bainha, pendão floral e;

limbo foliar. Os limbos foliares foram submetidos ao Leitor Fotoelétrico de Área Foliar portátil LI 3000C (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, EUA), para a obtenção da Área Foliar Total (AFT) por planta (SANGOI et al., 2011). Posteriormente, o Índice de Área Foliar (IAF) foi obtido pela divisão entre a média da área foliar total das três plantas pela área ocupada por cada planta no campo (1750 cm²) (SANGOI et al., 2011).

4.2.1.2 Matéria Seca do Milho (MSM)

Para a MSM foram utilizadas as mesmas três plantas de milho por parcela, avaliadas para o IAF nos estádios V4, V8 e VT. As amostras foram levadas para a estufa com ventilação forçada de ar a 65°C até apresentarem peso constante (MOREIRA et al., 2014).

4.2.1.3 Teores de macronutrientes foliar do milho

O estado nutricional das plantas de milho foi avaliado coletando-se a folha oposta e abaixo da espiga inferior, de 10 plantas aleatórias na área útil de cada parcela, no estágio VT (pendoamento). As folhas, após exclusão da nervura central, foram secas em estufa com ventilação forçada a 65°C, até atingirem peso constante. Posteriormente as amostras foram processadas em moinho e enviadas para o Laboratório de Análises Químicas de Solo e Plantas CCA/UFSCar para serem analisadas quanto aos teores dos macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989).

4.2.1.4 Índice de clorofila Falker (ICF)

As avaliações do ICF foram realizadas nos estádios fenológicos V4, V8 e VT em 10 plantas aleatórias na área útil de cada parcela, com clorofilômetro - ClorofiLOG® modelo CFL 1030, produzido pela Falker Automação Agrícola (FALKER, 2008). Foram realizadas duas leituras no terço mediano da última folha expandida e utilizou-se a média das leituras (KAPPES et al. 2013).

4.2.1.5 Produtividade de grãos de milho

O milho foi colhido em espigas e posteriormente processado em debulhador elétrico estacionário. A produtividade dos grãos foi obtida pela massa total dos grãos por parcela, corrigido a umidade para 13%, os valores foram apresentados em t ha⁻¹.

4.2.2 Análise de crescimento e acúmulo de nutrientes das fabáceas

4.2.2.1 Matéria seca da parte aérea das fabáceas (MSF)

Para a MSF foram coletadas três amostras por parcela da parte aérea das fabáceas presentes em um metro, nos estádios fenológicos V4, V8, VT e R6

(maturação fisiológica do milho). Posteriormente, as amostras foram secas em estufa com ventilação forçada de ar a 65°C até a estabilização do peso (adaptado de MOREIRA et al., 2014).

4.2.2.2 Acúmulo de macronutrientes na parte aérea das fabáceas

A matéria seca da parte aérea das fabáceas coletadas no estádio R6 do milho, foram processadas em moinho e encaminhadas para o Laboratório de Análises Químicas de Solo e Plantas CCA/UFSCar para a determinação dos teores de N, P, K, Ca, Mg e S, segundo a metodologia proposta por Malavolta, Vitti e Oliveira (1989). Os valores obtidos em g kg^{-1} foram multiplicados pelos resultados de MSF (kg ha^{-1}), de forma a se obter o acúmulo de macronutrientes na parte aérea das fabáceas (kg ha^{-1}).

Para os consórcios que possuem duas espécies de fabáceas (*C. spectabilis* e *C. cajan*) no sistema (MCG10 e MCG6), as amostras enviadas ao laboratório foram compostas por um volume de 7,85 cm^3 do material processado de cada espécie, proporcional ao número de plantas coletadas por metro linear

4.2.3 Disponibilidade de nitrogênio no solo

4.2.3.1 Teores de amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) no solo

Foi coletada uma amostra de solo composta (formada por quatro subamostras coletadas em forma de cruz, ou seja, duas amostras na linha de cultivo e duas amostras a aproximadamente 0,30 m dessa) de cada parcela na profundidade de 0 – 0,20 m de solo com trado holandês, nos estádios V2, V4 e VT do milho. As amostras foram acondicionadas em sacos de plástico e depositadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável. Posteriormente, as amostras foram peneiradas em malha de 2 mm e acondicionadas em freezer de ultra-temperatura a -80°C até realização da análise que seguiu o método de Kjeldahl (YASUHARA; NOKIHARA, 2001).

Para a determinação dos teores de NH_4^+ e NO_3^- foram utilizadas 10g de solo úmido adicionado a 50 ml de KCl 2M e levados para agitação a 200rpm por 2h. Após a decantação e filtragem do sobrenadante, transferiu-se 20ml do mesmo para um tubo de destilação, adicionando 200mg de MgO e exposto ao processo de destilação. O produto condensado dessa destilação foi coletado em 10 ml da solução de ácido bórico mais indicadores. Posteriormente adicionou-se 300mg da liga de devarga ao tubo de destilação e reiniciou-se o processo de destilação e coleta em uma nova solução de 10 ml de ácido bórico mais indicadores. Em cada

um dos processos de destilação obtém-se respectivamente o NH_4^+ e o NO_3^- , titulados com solução de H_2SO_4 (0,005M), conforme metodologia de (KEENEY; NELSON, 1982; COELHO; ANDRADE; CANTARELA, 1992).

4.2.3.2 Quantificação de gene *nifH*

Para esta análise foram utilizadas as mesmas amostras de solo coletadas para a avaliação dos teores de NH_4^+ e NO_3^- no solo. A extração do DNA total do solo foi elaborada utilizando-se 0,04 g de solo, sendo esta elaborada com o Kit PowerSoil DNA Kit (Mobio Laboratories, EUA) de acordo com instruções do fabricante.

A quantificação do número de cópias do gene *nifH* ocorreu seguindo a metodologia de PCR quantitativo (qPCR). Nesta, foram utilizados os iniciadores (primers) FGPH19 e PolR (SIMONET et al., 1992; POLY et al., 2001). As reações foram feitas para um volume final de 25 μl contendo: 12,5 μl do kit SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems), 0,4 μl de cada primer a uma concentração de 100 pmol/ μl , 0,25 μl de BSA a uma concentração de 20mg/ml, 1 μl de DNA molde previamente extraído e água Mili-Q para complementar o volume da reação. As condições de amplificação foram: pré-desnaturação de 95°C por 15 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 1 min, 55°C por 30 seg e 72°C por 1min.

Adicionalmente, a curva padrão foi obtida realizando amplificações com número de cópias conhecidos de DNA molde. Isto permitiu determinar a eficiência da quantificação, seguidas de uma regressão logarítmica das diluições utilizadas, obtendo-se um valor de R^2 . Por ultimo, foi elaborada uma curva de desnaturação (curva de melting) com uma variação de 60 a 96°C ao final da ciclagem, com o objetivo de avaliar as especificidades das amplificações.

4.2.4 Forma de análise dos resultados

Paras as variáveis índice de área foliar - IAF, matéria seca - MSM e índice de clorofila Falker – ICF do milho, a análise estatística seguiu o esquema fatorial 4x3, quatro consórcios (MC5, MG5, MCG6 e MCG10) e três épocas de avaliação (estádios fenológicos V4, V8 e VT do milho). Para a variável matéria seca das fabáceas (MSF) a análise estatística seguiu o esquema fatorial 4 x 4, quatro consórcios (MC5, MG5, MCG6 e MCG10) e quatro épocas de avaliação (estádios fenológicos V4, V8 e VT e R6 do milho). Os valores de IAF do milho e, MSF foram transformados pela equação $\log(x)$ para atender a normalidade dos dados.

A análise estatística das variáveis: teores NH_4^+ e NO_3^- e quantificação da expressão do gene *nifH*, seguiu o esquema fatorial 4 x 3, quatro consórcios (MC5, MG5, MCG6 e MCG10) e três épocas de avaliação (estádios fenológicos V2, V4 e VT do milho). Os valores de NH_4^+ foram transformados pela equação $\log(x)$ para atender a normalidade dos dados.

Os resultados das variáveis obtidos nos consórcios (MC5, MG5, MCG10 e MCG6) foram submetidos à análise de variância (teste F) e, quando significativos ($P < 0,05$) as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os resultados das variáveis obtidos no tratamento M foram comparados com os resultados de cada um dos consórcios (MC5, MG5, MCG10, MCG6) por meio de contrastes ortogonais. Com a finalidade de correlacionar os dados de uma forma integrada, todas as variáveis foram submetidas a uma análise de componentes principais (ACP) plotada com variáveis de contribuição com cosseno $\geq 0,3$. As análises foram executadas no software livre R (versão 3.3.2).

5. Resultados e discussão

5.1 Crescimento, teor de macronutrientes e produtividade de grãos do milho

O índice de área foliar (IAF) e a matéria seca do milho (MSM) (Tabela 3) foram influenciados pela interação entre os consórcios e os estádios fenológicos avaliados. Para o índice de clorofila falker (ICF) houve efeito isolado dos consórcios (Tabela 3).

Os menores valores de IAF do milho foram encontrados nos consórcios MCG10 e MG5 nos estádios V4 e V8 (Tabela 3). Comparando o IAF do milho solteiro (M) com os consórcios, verificou-se valores superiores no MCG6 no estágio V8 e no MC5 nos estádios V8 e VT (Tabela 4). Isso permite inferir que a *C. spectabilis* proporcionou incremento no IAF do milho. Enquanto que o aumento da densidade de fabáceas por metro linear (MCG10) e o guandú-anão na densidade de cinco plantas m^{-1} (MG5) ocasionaram em competição interespecífica, a qual reduziu o IAF do milho.

O IAF do milho está entre os fatores que interferem na interceptação da radiação solar, afetando diretamente a fotossíntese (ARGENTA et al. 2001). Dessa forma, a redução, ou o aumento do IAF do milho nos consórcios pode influenciar a produção de matéria seca e, conseqüentemente a produtividade de grãos do cereal.

Tabela 3. Índice de área foliar (IAF), matéria seca do milho (MSM) e índice de clorofila falker (ICF) nos estádios fenológicos V4, V8 e VT do milho, teor de macronutrientes foliar do milho (g Kg^{-1}) no estágio VT e produtividade de grãos (PROD) do milho em função dos consórcios. Araras/SP, safra 2017/18.

Consórcios ²	IAF			MSM (Kg ha^{-1})			PROD (t ha^{-1})
	V4	V8	VT	V4	V8	VT	
MCG6	0,14 Bb ¹	2,45 Ba	2,66 Aba	239,50 Ab	5393,60 Ba	5558,85 ABa	5,01 A
MCG10	0,07 Dc	1,77 Cb	2,35 Aba	144,50 Ab	4915,75 Bb	5786,80 Ba	3,67 AB
MC5	0,19 Ab	3,31 Aa	2,84 Aa	274,00 Ab	8120,50 Aa	8270,55 Aa	4,40 A
MG5	0,09 Cc	1,71 Cb	2,28 Ba	147,25 Ab	3639,75 Ba	3756,15 Ca	2,39 B
CV (%)		6,93			26,79		24,73
Teor de macronutrientes foliar do milho							
	ICF	(g Kg^{-1})					
		N	P	K	Ca	Mg	S
MCG6	49,12 A	22,00 A	2,14 B	14,55 A	3,20 A	1,05 A	0,74 A
MCG10	44,83 BC	21,33 A	1,61 C	10,10 B	3,56 A	1,28 A	0,56 B
MC5	46,54 AB	20,17 A	2,28 B	16,68 A	3,38 A	1,42 A	0,78 A
MG5	42,23 C	15,00 B	3,35 A	14,71 A	2,50 A	1,26 A	0,55 A
CV (%)	5,51	6,79	9,17	8,13	16,51	20,92	10,38

¹Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância.

² Milho/crotalária/guandú-anão – seis plantas m^{-1} (MCG6), milho/crotalária/guandú-anão – dez plantas m^{-1} (MCG10), milho/crotalária – cinco plantas m^{-1} (MC5), milho/guandú-anão -cinco plantas m^{-1} (MG5), milho solteiro (M).

Comparando a MSM nos consórcios com o tratamento milho solteiro (M), encontrou-se no estágio V4, produção inferior nos consórcios MCG10 e MG5 e, nos estádios V8 e VT no consórcio MG5 (Tabela 4). A partir do estágio V8, houve incremento na MSM no consórcio MC5 diferindo do milho solteiro (M) (Tabela 4). Corroborando com os resultados do IAF do milho, mencionados anteriormente.

Oliveira et al. (2010) observaram incrementos de produção de matéria seca do milho quando consorciado com *C. spectabilis* ($1,15 \text{ t ha}^{-1}$), em comparação ao guandú-anão ($0,90 \text{ t ha}^{-1}$), ambos na linha de cultivo, sem adição de N.

A *C. spectabilis* possui crescimento lento e constante em relação ao milho, assim como menor altura, de forma a reduzir a competição entre as espécies (KAPPES; ZANCANARO, 2015), ou seja, a maior produção de matéria seca da parte aérea do milho no consórcio com a *C. spectabilis* deve-se as características da fabácea.

Os resultados de IAF e MSM do milho indicam que no consórcio MCG10 a competição foi mais expressiva nos estádios iniciais de crescimento do milho, enquanto que no consórcio MG5 a competição interespecífica (milho e guandú-anão) ocorreu durante todo o desenvolvimento do milho, interferindo na produtividade de grãos de milho. O consórcio MG5 teve menor produtividade de grãos que os consórcios MC5 e MCG6 (Tabela 3). Os consórcios MCG10 e MG5 também apresentaram menor produtividade de grãos que o milho solteiro (Tabela 4).

A atenuação dos efeitos da competição inicial no consórcio MCG10, deve-se a uma possível cooperação mútua entre as espécies de fabácea, na qual, a crotalaria reduziu a competição interespecífica entre o guandú-anão e o milho (Tabela 3 e 4).

No entanto, Gallo et al. (2017) obtiveram maior produtividade de grãos de milho no consórcio com a maior densidade de plantas de guandú-anão (semeadas na linha e duas faixas na entrelinha de cultivo de milho). De acordo com os autores, a produtividade superior de grãos de milho nesse consórcio, estaria relacionada ao aumento do teor de N foliar do milho, advindo da fixação biológica.

O ICF foi superior no consórcio MCG6 quando comparado com MG5 e MCG10 (Tabela 3). Em comparação ao milho solteiro, o consórcio MG5 apresentou ICF inferior (Tabela 4), sugerindo competição por nitrogênio entre o milho e o guandú-anão na densidade de cinco plantas, pois, o ICF correlaciona-se positivamente com os teores de nitrogênio (COSTA et al., 2012).

O aumento do ICF no milho no consórcio MCG6 sugere aparentemente que, a utilização de duas espécies de fabáceas (*C. specatabilis* e *C. cajan*) consorciadas concomitantemente ao milho, possui potencial de maximizar a disponibilidade e absorção do N, aumentando o ICF do cereal. O fato pode estar relacionado também a cooperação mútua das espécies de fabáceas. O cultivo de crotalária simultâneo ao guandú-anão, proporcionou o estabelecimento da competição entre as fabáceas, reduzindo a competição entre o guandú-anão e o milho.

O teor de N foliar do milho foi menor no MG5, comparado aos demais consórcios (Tabela 3) e ao milho solteiro (Tabela 4). Não houve incrementos do nitrogênio nos consórcios, corroborando com Pereira, Soares e Pereira (2012) que afirmaram que este benefício pode não ser aproveitado pelo milho no mesmo ciclo de cultivo.

Esses resultados divergem de Gallo et al (2017) que encontraram maior teor de N no milho consorciado com guandú-anão semeado na linha e duas faixas na entrelinha. Ressalta-se, que todos os tratamentos no presente trabalho, apresentaram teores de N foliares inferiores a faixa adequada para o milho (27,5 a 32,5 g Kg⁻¹) de acordo com Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Diferente do N, o maior teor de P foliar do milho foi alcançado no consórcio MG5 e o menor no MCG10 (Tabela 4). Os consórcios MG5, MCG6 e MC5 apresentaram teores de P foliares do milho superiores ao tratamento milho solteiro (Tabela 3), indicando maior disponibilização e absorção deste nutriente pelo milho quando consorciado com as fabáceas. No entanto, apenas o consórcio MG5 alcançou a faixa adequada de P foliar (2,5 a 3,5 g Kg⁻¹) para o milho (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

A espécie *C. cajan* durante o crescimento pode exsudar compostos radiculares na rizosfera que contribuem para a solubilização e mobilização do P indisponível no solo (WUTKE; CALEGARI; WILDNER, 2014). Além da espécie apresentar hábil associação micorrízica (QUEIROZ 2006, SANGINGA et al., 1996).

O consórcio MCG10 proporcionou o menor teor de K foliar do milho (Tabelas 3 e 4) e, nos demais consórcios (MCG6, MC5 e MG5) os teores de K foliar foram superiores ao milho solteiro (Tabela 4). Os resultados indicam provável favorecimento na absorção de K pelo milho nos consórcios, excetuando o MCG10. Nenhum dos tratamentos alcançou a faixa de teor de K adequada para a cultura (17,5 a 22,5 g Kg⁻¹) (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Ao contrário do K, todos os tratamentos apresentaram teores foliares de Ca dentro da faixa adequada para o milho (2,5 a 4,0 g kg⁻¹) (MALAVOLTA, VITTI; OLIVEIRA, 1997) (Tabela 3). O consórcio MG5 apresentou o menor teor de Ca foliar em relação ao milho solteiro (M) (Tabela 4), sugerindo competição pelo nutriente.

Nenhum dos tratamentos alcançou a faixa de teor foliar de Mg adequada da cultura (2,5 a 4,0 g Kg⁻¹) (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). E, não houve diferença entre os consórcios, nem entre estes e o milho solteiro (Tabela 3 e 4).

Os baixos teores de K podem ser explicados devido a relação existente entre esse elemento e o Ca. Esses nutrientes disputam o mesmo sítio de absorção das raízes e a absorção do Ca pode ter inibido a absorção do K. O mesmo mecanismo pode explicar a redução dos teores de Mg, pois este possui o mesmo sítio de absorção do Ca (MEDEIROS et al., 2008).

O milho nos consórcios MCG10 e MG5 apresentou valor inferior quanto ao teor foliar de S, em relação ao milho solteiro (Tabela 4). No entanto, nenhum dos tratamentos atingiram a faixa adequada para a cultura (1,5 a 2,0 g kg⁻¹) (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Os menores teores de P, K e S no consórcio MCG10 em relação aos demais consórcios (Tabela 3), sugere que o aumento da densidade de fabáceas por metro culminou em maior competição nutricional entre o milho e as fabáceas.

O S é demandado pelas fabáceas no processo de FBN, pois este nutriente é componente da enzima nitrogenase, responsável pela redução do N atmosférico (N₂) (DIAS, 2016). O que indica competição interespecífica pelo nutriente e também, resquícios do processo de FBN em ambos os consórcios (MCG10 e MG5).

Tabela 4. Contrastes entre os consórcios e o milho solteiro para as índice de área foliar (IAF), matéria seca do milho (MSM) e índice de clorofila falker (ICF) nos estádios fenológicos V4, V8 e VT do milho, teor de macronutrientes foliar do milho (g Kg⁻¹) no estágio VT e produtividade de grãos (PROD) do milho. Araras/SP, safra 2017/2018.

Consórcios ²	IAF			MSM (Kg ha ⁻¹)			PROD (t ha ⁻¹)
	V4	V8	VT	V4	V8	VT	
MCG6	0,14 ^{***1}	2,45 ^{**}	2,66 ^{ns}	239,50 ^{ns}	5393,60 ^{ns}	5558,85 ^{ns}	5,01 ^{ns}
MCG10	0,07 ^{***}	1,77 ^{***}	2,35 [*]	144,50 ^{***}	4915,75 ^{ns}	5786,80 [*]	3,67 [*]
MC5	0,19 ^{ns}	3,31 ^{***}	2,84 ^{**}	274,00 ^{ns}	8120,50 ^{**}	8270,55 ^{ns}	4,40 ^{ns}
MG5	0,09 ^{***}	1,71 ^{***}	2,28 ^{**}	147,25 ^{***}	3639,75 ^{**}	3756,15 ^{***}	2,39 ^{***}
M	0,20	2,18	2,66	360,45	7655,00	7833,60	6,11

	ICF			Teor de macronutrientes foliar do milho (g Kg ⁻¹)					
	V4	V8	VT	N	P	K	Ca	Mg	S
MCG6	49,12 ^{ns}	52,39 ^{ns}	45,37 ^{ns}	22,00 ^{ns}	2,14 ^{**}	14,55 ^{***}	3,20 ^{ns}	1,05 ^{ns}	0,74 ^{**}
MCG10	44,83 [*]	49,18 ^{ns}	41,71 ^{ns}	21,33 ^{ns}	1,61 ^{ns}	10,10 ^{ns}	3,56 ^{ns}	1,28 ^{ns}	0,56 [*]
MC5	46,54 ^{ns}	50,36 ^{ns}	44,41 ^{ns}	20,17 ^{ns}	2,28 ^{***}	16,68 ^{***}	3,38 ^{ns}	1,42 ^{ns}	0,78 ^{**}
MG5	42,23 ^{**}	46,72 ^{**}	36,65 ^{***}	15,00 ^{***}	3,35 ^{***}	14,71 [*]	2,50 [*]	1,26 ^{ns}	0,55 ^{***}
M	52,94	55,24	53,82	22,00	1,66	11,60	3,81	1,68	0,74

¹ *, ** e *** Significativo de acordo com o teste F a 5, 1 e 0,001 % de probabilidade, respectivamente. ^{ns} Não significativo, de acordo com o teste F a 5% de probabilidade.

² Milho/crotalária/guandú-anão – seis plantas m⁻¹ (MCG6), milho/crotalária/guandú-anão – dez plantas m⁻¹ (MCG10), milho/crotalária – cinco plantas m⁻¹(MC5), milho/guandú-anão -cinco plantas m⁻¹(MG5), milho solteiro (M).

5.2 Crescimento e acúmulo de nutrientes das fabáceas

Para a variável matéria seca das fabáceas (MSF) houve efeito da interação entre os consórcios e os estádios fenológicos (V4, V8, VT e R6) do milho (Tabela 5). A produção de MSF entre os consórcios diferiu entre si, apenas no estágio R6 do milho e, os consórcios MG5 e MCG10 proporcionaram a maior produção vegetal (Tabela 5).

A produção de matéria seca do guandú-anão no consórcio MG5 difere dos resultados obtidos por Gallo et al. (2017) que, no consórcio com a maior população de plantas de *C. cajan* cultivado em consórcio simultâneo ao milho, alcançaram valores máximos de 1,2 t ha⁻¹. Sabe-se, porém, que a época de semeadura influencia o desenvolvimento do guandú-anão.

Oliveira (2010), em consórcio simultâneo de milho com *C. spectabilis* e *C. cajan* na linha e entrelinha de cultivo, observou decréscimos da matéria seca da parte aérea das fabáceas com o aumento do intervalo entre a semeadura do milho (ou seja, quanto mais tardia foi a semeadura). A autora verificou produções acima de 1.200 kg ha⁻¹ para as semeaduras em 11 e 28 de novembro de 2008, (simultaneamente e 17 dias após a semeadura do milho, respectivamente) e produções abaixo de 800 kg ha⁻¹ para a semeadura das fabáceas em 03 de dezembro de 2008.

A espécie *C. cajan* apresenta elevada produção de matéria seca quando semeada na estação chuvosa (OLIVEIRA et al., 2010; GUEDES et al., 2017). A espécie também pode ter o crescimento reduzido, quando semeada tardiamente, devido a sensibilidade ao fotoperíodo e a redução da precipitação pluviométrica (GUEDES et al., 2017).

Destaca-se que o maior excedente hídrico, no presente trabalho, ocorreu no primeiro trimestre, após o semeio do experimento (Figura 1), indicando elevado volume de chuvas no início do estabelecimento do guandú-anão.

O acúmulo de N na parte aérea das fabáceas não diferiu entre os consórcios (Tabela 5). No entanto, o MG5 apresentou o maior acúmulo de P (Tabela 5).

O elevado acúmulo de P na parte aérea do guandú-anão é atribuído a capacidade da espécie em solubilizar e mobilizar este nutriente, quando indisponível no solo (WUTKE; CALEGARI; WILDNER, 2014) e, a sua hábil associação micorrízica (QUEIROZ, 2006, SANGINGA et al., 1996). Soma-se a essa explicação a elevada produção de matéria seca do guandú-anão no consórcio MG5 (Tabela 5).

O consórcio MG5 também acumulou mais K na matéria seca que o consórcio MC5, mais Mg que o MCG10 e mais S que o consórcio MCG6 (Tabela 5). Já para Ca o consórcio MCG10 apresentou menor acúmulo que o consórcio MC5 (Tabela 5).

O maior acúmulo de S encontrado no consórcio MG5 seguido do MCG10, pode ser atribuído a maior densidade das fabáceas e a elevada produção de massa seca do guandú-anão. Pois, o enxofre é componente da enzima nitrogenase, responsável pela redução do N atmosférico (N₂) em forma assimiláveis pelas plantas, no processo de fixação biológica de nitrogênio, assim quanto mais FBN as fabáceas realizam mais demandam enxofre (DIAS, 2016).

Tabela 5. Matéria seca das fabáceas (MSF) nos estádios fenológicos V4, V8, VT e R6 do milho e acúmulo de macronutrientes das fabáceas no estádio R6 em função dos consórcios. Araras/SP, safra 2017/18.

Consórcios ²	MSF (Kg ha ⁻¹)					
	V4	V8	VT	R6		
MCG6	9,27 Ab	341,55 Ab	644,64 Ab	2328,65 Ba		
MCG10	29,57 Ac	499,37 Abc	1010,11 Ab	3174,30 Aa		
MC5	11,36 Ab	223,86 Ab	499,84 Ab	1949,06 Ba		
MG5	14,11 Ac	238,54 Abc	773,91 Ab	3812,36 Aa		
CV (%)	35,49					
Acúmulo de macronutrientes parte aérea fabáceas (g Kg ⁻¹)						
	N	P	K	Ca	Mg	S
MCG6	45,14 A	4,25 B	37,38 BC	14,74 AB	3,42 B	3,91 C
MCG10	56,72 A	7,10 B	51,48 AB	24,44 A	5,03 AB	7,41 AB
MC5	37,56 A	3,90 B	34,03 C	12,75 B	3,59 B	4,38 BC
MG5	60,18 A	10,88 A	61,55 A	18,51 AB	6,30 A	9,79 A
CV (%)	24,58	25,82	13,87	25,32	23,68	21,70

¹Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância.

² Milho/crotalária/guandú-anão – seis plantas m⁻¹ (MCG6), milho/crotalária/guandú-anão – dez plantas m⁻¹ (MCG10), milho/crotalária – cinco plantas m⁻¹(MC5), milho/guandú-anão -cinco plantas m⁻¹(MG5).

5.3 Disponibilidade de nitrogênio no solo

O teor de amônio (NH₄⁺) no solo no estádio V2 do milho foi maior no consórcio MCG10, seguido do MG5 (Tabela 6). Já no estádio V4 a menor concentração de NH₄⁺ no solo foi observada no consórcio MCG6 e, não houve diferença entre os consórcios no estádio VT (Tabela 6).

Comparando os sistemas consorciados com o milho solteiro (M), os menores teores de NH_4^+ no solo foram verificadas no consórcio MCG6, no estádio V2 e V4 (Tabela 6). No estádio V2 a concentração de NH_4^+ no solo em todos os consórcios, com exceção do MCG6 foi superior em relação ao milho solteiro (Tabela 6), com destaque para o consórcio MCG10 que foi 109,77% superior ao do milho solteiro (Tabela 6). Já no estádio VT a concentração de NH_4^+ foi menor no consórcio MCG10 e maior no consórcio MG5, quando comparado com o milho solteiro (Tabela 6).

A mesma tendência foi observada para os teores de nitrato (NO_3^-) no solo. No estádio V2 o maior teor de NO_3^- no solo foi encontrada no consórcio MCG10 e o menor no MCG6 (Tabela 6). Nos estádios V4 e VT o maior teor de NO_3^- no solo foi observado no consórcio MG5 e o menor, manteve-se no MCG6 (Tabela 6). O consórcio MCG6 nos estádios V2 e V4 também apresentou teores de NO_3^- no solo menores que o milho solteiro (Tabela 6). No estádio V2 o maior teor de NO_3^- foi no MCG10 e, em VT tanto o MCG10 como o MG5 apresentaram valores superiores ao milho solteiro (Tabela 6).

Os maiores teores de NH_4^+ e NO_3^- no solo nos consórcios MCG10 e MG5, podem ser atribuídos a menor volatilização da amônia (NH_3) do composto orgânico, devido a maior produção de biomassa nesses consórcios. Na produção de milho orgânico com aplicação de composto orgânico, a volatilização de N- NH_3 ocorre de forma considerável (80 kg ha^{-1}), porém reduzida quando o milho foi consorciado com feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* DC.) (LEMOS et al., 2014).

Os mesmos autores também verificaram maiores teores de nitrato nas profundidades de 0-0,05 m e 0,05- 0,10 m do solo no consórcio de milho com feijão-de-porco quando comparado com o milho solteiro (LEMOS et al., 2014).

Além disso, a fixação de N atmosférico realizada pelas fabáceas no consórcio com o milho pode contribuir para aumentar os teores de NH_4^+ no solo pela excreção direta de compostos nitrogenados e, ou, pela decomposição de nódulos e raízes (COSTA; SILVA, 2008, FUSTEC et al., 2010).

Particularmente, o *C. cajan* apresenta hábil associação micorrízica (QUEIROZ, 2006, SANGINGA et al., 1996), a qual pode aumentar a eficiência da fixação biológica de N. Segundo Cassetari, Silva e Cardoso (2016) os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) influenciam diretamente o processo de nodulação,

por meio do fornecimento de fósforo para as fabáceas, suprimindo a elevada demanda desse nutriente nos nódulos.

Porém, mesmo com o aumento das concentrações de NH_4^+ e NO_3^- no solo, nos consórcios MCG10 e MG5, esses não refletiram no aumento dos teores de N foliar do milho e na produtividade de grãos (Tabela 3). Apesar do milho absorver, tanto NO_3^- como NH_4^+ , a forma preferencial de absorção da maioria dos cultivares é a de NO_3^- (GOTT et al., 2014).

Lemos et al. (2014) observaram que na profundidade de 0,10-0,20 m o consórcio de milho com o feijão-de-porco apresentou o teor máximo de nitrato aos 59 dias após o plantio do milho, enquanto que para o milho solteiro o teor máximo foi observado aos 30 dias após o plantio do milho. Indicando um possível atraso na oxidação do N-amoniaco em nitrato na presença do feijão-de-porco. Assim, a maior disponibilidade do NO_3^- no solo ocorreu após o período de maior demanda de N pelo milho.

Rajcan e Swanton (2001) acrescentam que o milho apesar de muito eficiente, pode apresentar limitações na absorção de nutrientes, principalmente N, durante seu desenvolvimento, na presença de um competidor, de modo a alterar a disponibilidade deste nutriente no solo e na planta. Contudo, no consórcio MCG6 os teores de NH_4^+ e NO_3^- no solo mantiveram-se constantes entre os estádios V2 e V4 (Tabela 6), o que pode ter contribuído para a melhor absorção de N pelo milho.

A eficiência de amplificação do gene *nifH* foi de 90% e a curva de regressão logarítmica (R^2) apresentou valor de 0,99. Os valores encontrados na quantificação deste gene variaram entre 4,94 a 5,38 log *NifH* g de solo⁻¹ (Tabela 6). A variável apresentou efeito isolado dos consórcios, no qual o MG5 e MCG10 alcançaram os maiores valores de expressão desse gene, não diferindo do consórcio MC5 (Tabela 6).

A maior produção de matéria seca nos tratamentos MG5 e MCG10 pode ter beneficiado a expressão do gene (Tabela 6). Huhe et al. (2014) afirmam que a maior produção de matéria seca das plantas e consequente aumento da exsudação radicular, pode maximizar a disponibilidade de carbono no solo e beneficiar a comunidade microbiana fixadora de N.

Tabela 6. Determinação de amônio (NH₄⁺) e nitrato (NO₃⁻) e expressão do gene *nifH* no solo, na profundidade de 0,0 - 0,20 m, nos estádios V2, V4 e VT do milho, em função dos consórcios e, contrastes entre os consórcios e o milho solteiro para as mesmas variáveis. Araras/SP, safra 2017/18.

Consórcios ²	NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)			NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)			NifH (log nº de cópias g de solo ⁻¹)		
	V2	V4	VT	V2	V4	VT	V2	V4	VT
MCG6	10,32 Da	10,43 Ba	5,71 Ab	7,77 Ca	7,47 Ba	3,41 Bb	4,94 B		
MCG10	31,78 Aa	14,70 Ab	4,60 Ac	18,91 Aa	8,32 ABb	4,83 ABb	5,30 A		
MC5	19,52 Ca	15,43 Ab	5,88 Ac	10,64 Ba	8,98 ABb	3,67 ABc	5,20 AB		
MG5	24,68 Ba	15,56 Ab	6,00 Ac	11,40 Ba	9,61 Ab	5,15 Ac	5,38 A		
CV (%)	6,07			10,16			4,84		
	NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)			NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)			NifH (log nº de cópias g de solo ⁻¹)		
	V2	V4	VT	V2	V4	VT	V2	V4	VT
MCG6	10,32 ^{***}	10,43 ^{ns}	5,71 ^{ns}	7,77 ^{***}	7,47 ^{**}	3,41 ^{ns}	4,78 ^{ns}	4,95 ^{ns}	5,19 ^{ns}
MCG10	31,78 ^{***}	14,70 ^{ns}	4,60 ^{**}	18,91 ^{***}	8,32 ^{ns}	4,83 [*]	5,32 ^{ns}	5,27 ^{ns}	5,31 ^{ns}
MC5	19,52 ^{***}	15,43 ^{ns}	5,88 ^{ns}	10,64 ^{**}	8,98 ^{ns}	3,67 ^{ns}	5,16 ^{ns}	5,36 ^{ns}	5,10 ^{ns}
MG5	24,68 ^{***}	15,56 ^{ns}	6,00 [*]	11,40 ^{ns}	9,61 ^{ns}	5,15	5,25 ^{ns}	5,42 ^{ns}	5,47 ^{**}
M	15,15	20,26	4,76	12,23	10,19	3,83 ^{**}	4,39	4,92	5,12

¹ Médias seguidas de letras iguais, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre-si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância

² Milho/crotalaria/guandú-anão – seis plantas m⁻¹ (MCG6), milho/crotalaria/guandú-anão – dez plantas m⁻¹ (MCG10), milho/crotalaria – cinco plantas m⁻¹ (MC5), milho/guandú-anão -cinco plantas m⁻¹ (MG5).

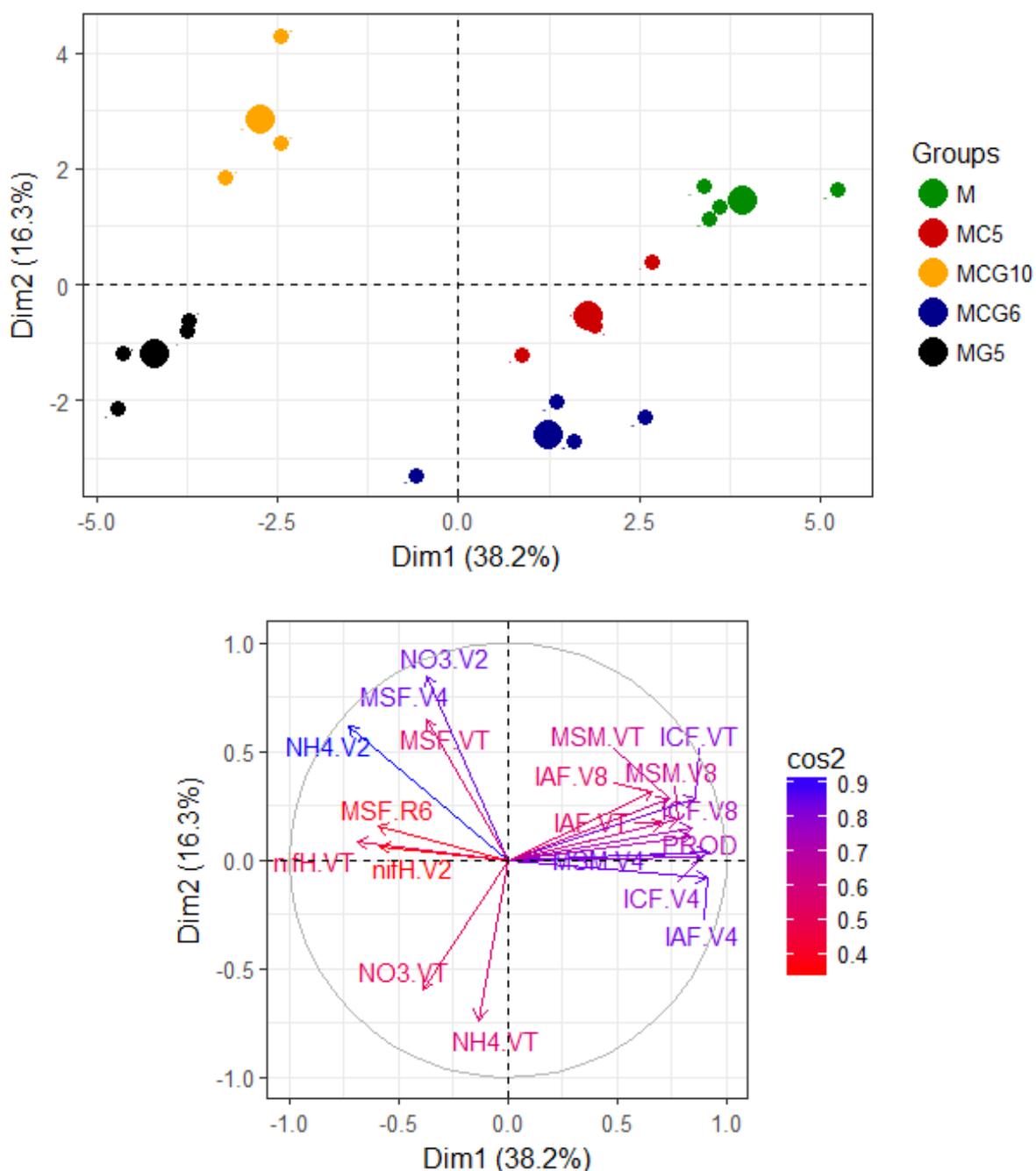
O consórcio MG5 diferiu do milho solteiro no estágio VT em número de cópias do gene *nifH* g⁻¹ de solo (Tabela 5). Corroborando com Barros et al. (2018) que indica valores superiores de log de *nifH* por grama de solo em consórcios entre a poácea e fabácea, em comparação com cultivo solteiro da poácea. Os autores afirmam ainda que tal resultado advém da excreção de compostos sinalizadores produzidos pelas fabáceas, capazes de estimular a ação de bactérias fixadoras de nitrogênio.

Apesar dos maiores teores de amônio e nitrato e da maior expressão do gene *nifH* nos consórcios MCG10 e MG5, não foram observados incrementos no teor de N foliar do milho. Os resultados corroboram com Silva (2016) que indica absorção tardia de N pelo milho quando na presença de maiores concentrações do nutriente.

A análise de componentes principais (ACP) seguido de um *biplot* das variáveis deste estudo, explica nos dois primeiros eixos (Dim1 e Dim2) 54,5% das variações encontradas e integra os resultados anteriormente apresentados (Figura 2). Os resultados da ACP demonstram dois agrupamentos principais, em função de suas similaridades quanto as variáveis analisadas, onde o primeiro é constituído pelos consórcios MC5, MCG6 e pelo tratamento de milho solteiro (M). O segundo agrupamento refere-se aos consórcios MG5 e MCG10, semelhantes entre si, no entanto, diferentes do agrupamento 1 (Figura 2).

Baseado no *biplot*, as variáveis associadas ao crescimento do milho (ICF, IAF, MSM) nos estádios V4, V8 e VT e, a produtividade de grãos (PROD) de milho, estão voltadas para a direita na Dim1, indicando maior potencial desses tratamentos para o agrupamento 1 (M, MC5 e MCG6). Em contrapartida as variáveis que indicam o crescimento das fabáceas (MSF) em R6 e a quantidade de nitrogênio no solo (“NH₄”, “NO₃” e “nifH”) nos estádios V2, V4 e VT, estão voltadas para a esquerda na Dim1, indicando que o agrupamento 2 (MG5 e MCG10) demonstra maior potencial ao desenvolvimento das fabáceas e conseqüentemente a fixação e disponibilidade de nitrogênio no solo (Figura 2).

Figura 2. Biplot da distribuição em dois componentes principais das variáveis: índice de área foliar (IAF), matéria seca do milho (MSM), índice de clorofila falker (ICF) nos estádios V4, V8 e VT do milho, teor de nitrogênio foliar em e produtividade de grãos do milho (PROD) em VT, acúmulo de nitrogênio e produção de matéria seca das fabáceas (MSF) nos estádios V4, V8, VT e R6, teor de nitrato e amônio do solo e expressão do gene *nifH* nos estádios V2, V4 e VT do milho. Araras/SP, safra 2017/18.



6 CONCLUSÕES

- Há redução das variáveis de crescimento e produtividade de grãos do milho no aumento da densidade de fabáceas (MCG10) e no consórcio com guandú-anão (MG5), devido a potencialização da competição interespecífica com o milho. Por outro lado, o consórcio com a crotalária (MC5) proporciona incrementos na produção de matéria seca do cereal.

- Quanto ao estado nutricional do milho, os consórcios com as fabáceas (MCG6, MG5 e MC5) aumentam os teores de fósforo e potássio foliar no milho e, o aumento da densidade de fabáceas (MCG10) acarreta em competição interespecífica nutricional, reduzindo os teores de fósforo, potássio e enxofre foliar do milho. Não foram observados incrementos nos teores de nitrogênio do milho na presença das fabáceas.

- Para a fixação biológica e disponibilização do nitrogênio, o cultivo simultâneo de *C. spectabilis* e *C. cajan* com o milho (MCG6), diminui o teor de amônio e nitrato no solo e em contrapartida, aumenta os teores de índice de clorofila falker no milho em comparação aos demais consórcios, podendo indicar que as plantas de milho absorveram o nitrogênio do solo. A maior produção de matéria seca das fabáceas (MG5 e MCG10) aumenta a quantidade do gene *nifH* no solo.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho pode-se evidenciar o potencial da utilização de duas fabáceas (*C. spectabilis* e *C. cajan*) consorciadas simultaneamente ao milho, na ausência de competição, quanto a diminuição do nitrogênio no solo e provável disponibilização deste nutriente ao milho, como também, aumento da competição interespecífica entre as fabáceas, de forma a reduzir a competição estabelecida pelo guandú-anão e o milho e aumentar os benefícios proporcionados pelas leguminosas.

O consórcio de milho com o guandú-anão, quando semeado em novembro, no início das chuvas, ocasiona em elevado desenvolvimento e produção de biomassa da fabácea, intensificando a competição com o milho e resultando em redução do crescimento e da produtividade de grãos da poaceae. De tal forma, não se indica o cultivo de milho consorciado com guandú-anão com semeaduras nesta época do ano, em regiões com distribuição de chuvas semelhantes a encontrada no Oeste do estado de São Paulo, onde localiza-se o município de Araras.

Em contrapartida, semeio exclusivo do guandú-anão no mês de outubro, em no início das chuvas, pode contribuir para a produção de palhada e, cobertura do solo, melhoria das características químicas, físicas e biológicas do solo, maior fixação biológica de nitrogênio e maior ciclagem de nutrientes, resultando em um ambiente favorável ao desenvolvimento da cultura em sucessão, que pode refletir no

aumento de produtividade. Destaca-se ainda, o elevado potencial do guandú-anão em solubilizar e disponibilizar fósforo para o milho.

Sugere-se estudos adicionais para compreender a dinâmica entre a maior disponibilidade de nitrogênio no solo e a absorção desse nutriente pelo milho nos sistemas consorciados, pois, não foram encontrados incrementos de nitrogênio foliar para o milho, apesar dos resultados de fixação biológica de nitrogênio e disponibilização deste nutriente. Assim como, estudos que confirmem a viabilidade do cultivo consorciado de milho com guandú-anão e, ou, com a *C. spectabilis*, com a ausência de prejuízos para a produtividade de grãos da poaceae.

8 LITERATURA CITADA

ABADE, C. L. P. et al. Variação espacial de fitonematoides em área de cultivo de feijoeiro após erradicação de goiabeiras. **Nematropica**, v.46, n.2, p.172-181, 2016.

AE, N. et al. Phosphorus uptake by Pigeonpea and its role in cropping systems of the Indian subcontinent. **Science**, v. 284, p. 477- 80, 1990.

ALBUQUERQUE, P. E. P.; RESENDE, M. **Cultivo do milho. Manejo da irrigação**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 47).

AMABILE, R. F.; FANCELLI, A. L.; CARVALHO, M. de C. Comportamento de espécies de adubos verdes em diferentes épocas de semeadura e espaçamentos na região dos cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 47-54, 2000.

AMABILE, R. F.; FANCELLI, A. L.; CARVALHO, M. de C. Comportamento de espécies de adubos verdes em diferentes épocas de semeadura e espaçamentos na região dos cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 47-54, 2000.

AMABILE, R. F.; FERNANDES, F. D.; PIMENTEL, A. do P. M. Avaliação da resposta de genótipos de guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) na região do Cerrado. **Revista Ceres**, v. 55, n. 3, p. 231-235, 2008.

AMBROSANO, E. J. **Dinâmica do nitrogênio dos adubos verdes, crotalária júncea (*Crotalaria juncea*) e mucuna-preta (*Mucuna aterrima*), em dois solos cultivados com milho**. Piracicaba, 1995. 83p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP, 1995.

AMBROSANO, E. J.; TIVELIN, P. C. O.; CANTARELLA, H.; AMBROSANO, G. M. B.; SCHAMMASS, E. A.; MURAOKA, T.; GUIRADO, N.; ROSSI, F. Nitrogen supply to corn from sunn hemp and velvet bean green manures. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 3, p. 386-394, 2009.

AMBROSANO, E. J.; TRIVELIN, P. C. O.; MURAOKA, T. Técnica para marcação dos adubos verdes crotalária júncea e mucuna-preta com ¹⁵N para estudos de dinâmica do nitrogênio. **Bragantia**, v. 56, n. 1, 1997.

ANDRADE, A. G. et al. Acumulação diferencial de nutrientes por cinco cultivares de milho (*Zea mays* L.): I-acumulação de macronutrientes. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, 1975. v.32, p.115-149.

ANDRADE, A.C. et al. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier). **Ciência e Agrotecnologia**, p.1643-1651, 2003.

ARAÚJO, L. S. et al. Potencial de cobertura do solo e supressão de tiririca (*Cyperus rotundus*) por resíduos culturais de plantas de cobertura. **Revista Ceres**, 62, p. 483-488, 2015.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. da; SANGOI, L. Arranjo de plantas em milho: análise do estado-da-arte. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 1075-1084, 2001.

ARNON, I. **Mineral nutrition of mayze**. Bern: International Potash Institute, 1975. 452 p.

BARCELLOS, A. O.; RAMOS, A. K. B.; VILELA, L.; MARTHA JUNIOR, G. B. Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. **Revista Brasileira e Zootecnia**, v. 37, suplemento especial, p. 51-67, 2008.

BARRETO, A. C.; FERNANDES, M. F. **Recomendações técnicas para o uso da adubação verde em solos de tabuleiros costeiros**. Aracajú: EMBRAPA: Tabuleiros Costeiros. 2001. (Circular Técnica, 19) 7p.

BARROS, F. M. do R. et al. Silvopastoral systems drive the nitrogen-cycling bacterial community in soil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 3, p. 281-290, 2018.

BENDER, R. R. et al. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern, transgenic insect-protected maize hybrids. **Agronomy Journal**, v.105, n.1, p.161-170, 2013.

BONFIM-SILVA, E. M. et al. Adubação fosfatada no desenvolvimento e produção de feijão guandu em latossolo vermelho do cerrado em primeiro cultivo. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 5, 2014

BORGES, I. D. **Marcha de absorção de nutrientes e acúmulo de matéria seca em cultivares de milho**. 2006. 115p. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, 2006.

BRASIL. **Entenda a importância do milho na sua vida**. Disponível em: <<http://www2.planalto.gov.br/acompanhe-planalto/noticias/2017/02/entenda-a-importancia-do-milho-na-sua-vida>>. Acesso em: 24 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011**. Dispõe sobre sistemas orgânicos de produção animal e vegetal. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 6 de outubro de 2011.

BRAZ, G. B. P. et al. Selection of herbicides targeting the use in crop systems cultivated with showy crotalaria. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 521-534, 2015.

BRSEEDS. **Cajanus cajan cv. IAPAR 43**. Disponível em: https://www.brseeds.com/loja/produto-248016-1162-sementes_feijao_guandu_anao_caixa_com_3_kg. Acesso em: 12 Dez. 2018.

BÜLL, L. T. Nutrição mineral do milho. In: Bull, L. T., Cantarella, H. **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba. 1993. p.63-145.

BURLE, M. L. et al. Caracterização das espécies de adubo verde. In: **Cerrado adubação verde**. Planaltina: EMBRAPA Cerrados - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Cerrados, p. 75-89, 2006.

CAETANO, M. **Demanda por orgânicos deve crescer em meio a polêmicas**. Diário Comércio Indústria & Serviços, São Paulo, 18 jul. 2018.

Disponível em: <https://www.dci.com.br/impresso/demanda-por-organicos-deve-crescer-em-meio-a-polemicas-1.724668>. Acesso em: 20 jul. 2018.

CALEGARI, A. Perspectivas e estratégias para a sustentabilidade e o aumento da biodiversidade dos sistemas agrícolas com o uso de adubos verdes. In: LIMA FILHO, O. F. de et al. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e prática**. Brasília: Embrapa, 2014. v. 1 (507p.).

CALVO, C. L.; FOLONI, J. S. S.; BRANCALIÃO, S. R. Produtividade de fitomassa e relação C/N de monocultivos e consórcios de guandu-anão, milho e sorgo em três épocas de corte. **Bragantia**, v.69, p.77-86, 2010.

CASSETARI, A. de S.; SILVA, M. C. P. da; CARDOSO, E. J. B. N. Capítulo 8: Fixação Biológica de nitrogênio simbiótica. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221 p.

COELHO, A. M. **Nutrição e adubação do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo. 2006. (Circular Técnica, 78) 10p.

COELHO, N. M. M.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H. Determinação de amônio e nitrato em solos por injeção de fluxo, pelo método difusão-condutividade. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 16, p. 325-329, 1992.

COELHO, S. P. **Coberturas Vegetais no Sistema de Plantio Direto Orgânico do Milho**. 2014. 54 f. Dissertação (Mestrado) – Pós Graduação em Agroecologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

COELHO, S. P.; GALVÃO, J. C. C.; GIEHL, J.; CAMPOS, S. de A.; BRITO, L. M.; SANTOSS, T. R. dos; MENDONÇA, B. F. Influência de *Azospirillum brasilense* no crescimento de milho em manejo orgânico e convencional. In: **Congresso Brasileiro de milho e sorgo**, 31, p. 1083-1086, 2016.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Safra Brasileira de Grãos**. Disponível em: https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/23999_57b97f236e2bf03f1f87c796a16fab99. Acesso em: 10 jan. 2019.

COSTA, A. S. V.; SILVA, M. B. Sistemas de consórcio milho feijão para a região do Vale do Rio Doce, Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 663-667, 2008.

COSTA, N. R. et al. Adubação nitrogenada no consórcio de milho com duas espécies de braquiária em sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n. 9, p. 1038-1047, 2012.

DENMEAD, O. T.; FRENEY, J. R.; SIMPSON, J. R. A closed ammonia cycle within a plant canopy. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 8, n. 2, p. 161-164, 1976.

DIAS, A. C. F. Capítulo 7: Transformações do nitrogênio no solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221 p.

DIAS, P. F. et al. Transferência do N fixado por leguminosas arbóreas para Capim Survenola crescido em consórcio. **Revista Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p. 352-356, 2007.

FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA. **ClorofiLOG: Medidor Eletrônico do Teor de Clorofila**. 2008. Disponível em: <<http://www.falker.com.br/produto-clorofilog-medidor-clorofila.php>>. Acesso em: jul. 2017.

FANCELLI, A. L.; TSUMANUMA, G. M. nitrogênio e enxofre nas culturas de milho e feijão. In: SILVIA, T. Y.; ABDALLA, R. S.; VITTI, G. C. **Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira**. Piracicaba, International Plant Nutrition Institute – Brasil. 2007. p.445-482.

FERNANDES, M. F.; BARRETO, A. C.; EMÍDIO FILHO, J. Fitomassa de adubos verdes e controle de plantas daninhas em diferentes densidades populacionais de leguminosas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 9, p. 1593–1600, 1999.

FERNANDES, S. B. V.; UHDE, L. T.; WÜNSCH, J. A. A fertilidade do solo em sistemas orgânicos de cultivo de soja. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, n. 1, p. 1541-1544, 2007.

FERRARI NETO, J. et al. Consórcio de guandu-anão com milho: persistência e liberação de macronutrientes e silício da fitomassa. **Bragantia**, v. 71, n. 2, p. 264-272, 2012.

FONTANETTI, A.; SANTOS, I. C. dos; GALVÃO, J. C. C. **Caracterização do milho orgânico**. In: PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; DUARTE, A. P.; TSUNECHIRO, A. Diversidade e inovações na cadeia produtiva de milho e sorgo na era dos transgênicos. Instituto Agrônomo / Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012, p. 215-232.

FORMENTINI, E. A. et al. **Cartilha sobre adubação verde**. INCAPER. Vitória- ES. 2008. 27p

FUSTEC, J. et al. Nitrogen rhizodeposition of legumes: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 30, n. 1, p. 57-66, 2010

GALLO, A. de S. et al. Macronutrient content and accumulations in different arrangements of dwarf pigeon pea intercropped with corn. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 11, p. 897-904, 2017.

GARCIA, J. M. et al. Gênero *Crotalaria* L. (Leguminosae, Faboideae, Crotalariaeae) na Planície de Inundação do Alto Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 209-226, 2013.

GIACOMINI, S. J., AITA, C., CHIAPINOTTO, I. C., HÜBNER A. P., MARQUES, M. G., CADORE, F. Consorciação de plantas de cobertura antecedendo o milho em plantio direto. II - nitrogênio acumulado pelo milho e produtividade de grãos. **Revista Brasileira Ciência do solo**, v.28, p. 751-762, 2004.

GILLER, K. E. **Nitrogen fixation in tropical cropping systems**. 2.ed. Wallingford: CAB International, 2001. 423p.

GITTI, D. de C. et al. Épocas de semeadura de crotalária em consórcio com milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 11, n. 2, p. 156-168, 2012.

GODOY, R.; SANTOS, P. M. *Cajanus cajan*. In: FONSECA, D. M.; MARTUSCELLO, J. A. **Plantas forrageiras**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2011. p. 294-309.

GOTT, R. M. et al. Fontes e épocas de aplicação de nitrogênio no milho safrinha. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 1, p. 24-34, 2014.

GUEDES, F. L. et al. **Variabilidade genética do feijão guandu adaptado para regiões de fotoperíodo neutro**. 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/172153/1/CNPC-2017-COT-166.pdf>. Acesso em: 23 out. 2018.

HEINRICHS, R. et al. Características químicas de solo e rendimentos de fitomassa de adubos verdes e de grãos de milho, decorrente do cultivo consorciado. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, n. 29, p. 71-79. 2005.

HENRICHS, R. et al. Produção e estado nutricional do milho em cultivo intercalar com adubos verdes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 225-230, 2002.

HODTKE, M. et al. Balanço de nitrogênio em diferentes sistemas de produção orgânica para milho e caupi. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO**, 26. 1997, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997.

HUHE, S. B. et al. Effect of abandonment on diversity and abundance of free-living nitrogen-fixing bacteria and total bacteria in the cropland soils of Hulun Buir, Inner Mongolia. **PloS one**, v. 9, n. 9, p. e.106714, 2014.

INOMOTO, M. M. et al. Reação de seis adubos verdes a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 1, p. 39-44, 2006.

KAPPES, C.; ZANCANARO, L. Sistemas de consórcios de braquiária e de crotalárias com a cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 14, n. 2, p. 219-234, 2015.

KAPPES, C.; ARF, O.; ANDRADE, J. A. da C. Produtividade do milho em condições de diferentes manejos do solo e de doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 5, p. 1310-1321, 2013.

KEENEY, D. R.; NELSON, D. W. Nitrogen inorganic forms. In: PAGE et al. Methods of soil analysis, part 2: chemical and microbiological properties. **American Society of Agronomy**, p. 643-698, 1982.

KLUTHCOUSKI, J. et al. **Manejo antecipado do nitrogênio nas principais culturas anuais**. Embrapa: Arroz e feijão, (Documento 113) p. 1-24, 2006.

KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. Fondo de Cultura econômica. 469 p. 1948.

LEMOS, J. P. et al. Disponibilidade de nitrato e amônio e quantificação de amônia volatilizada em área de cultivo de milho nos sistemas de plantio direto tradicional e orgânico. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 4, n. 2, p. 101-111, 2014.

LOVADINI, L. A. C.; MASCARENHAS, H. A. A. Estudos para definição da melhor época de plantio do guandu. **Bragantia**, Campinas, v. 33, n. 15, p. 5-8, 1974.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. 1997. 319 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 1989, 201 p.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadastro Nacional de Produtores Orgânicos**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/cadastro-nacional-produtores-organicos>>. Acesso em 20 nov. 2018.

MATRANGOLO, W. J. R. et al. Produção de milho verde orgânico irrigado consorciado com leguminosas. In: **CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E**

SORGO, 27.; SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, SPODOPTERA FRUGIPERDA, 3.; WORKSHOP SOBRE MANEJO E ETIOLOGIA DA MANCHA BRANCA DO MILHO, 2008. 5 p.

MEDEIROS, J. C. et al. Relação cálcio:magnésio do corretivo de acidez do solo na nutrição e no desenvolvimento inicial de plantas de milho em um Cambissolo Húmico Aplico. **Semina**, v. 29, n. 4, p. 799-806, 2008.

MOREIRA, S. G. et al. Massa seca e macronutrientes acumulados em plantas de milho cultivadas sob diferentes espécies de cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 2, p. 218-231, 2014.

MÜLLER, A. et al. Strategies for feeding the world more sustainably with organic agriculture. **Nature Communications**, v. 8, n. 1290, 2017.

NOVAKOWISKI, J. H. et al. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 1687-1698, 2011.

OLIVEIRA, P. **Consórcio de milho com adubos verdes e manejo da adubação nitrogenada no cultivo de feijão em sucessão no sistema Integração Lavoura-Pecuária no Cerrado**. 2010. 126 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

OLIVEIRA, P. de et al. **Sistema Santa Brígida - Tecnologia Embrapa: Consorciação de Milho com Leguminosas**. Embrapa Arroz e Feijão, 2010. 16 p. (Circular Técnica, 88).

OLIVEIRA, P. et al. Consórcio de milho com braquiária e guandu-anão em sistema de dessecação parcial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 10, p. 1184-1192, 2011.

PADILHA, F. A. et al. Produtividade de híbridos de milho sob dois níveis de tecnologia na região central de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.14, n.2, p. 207-218, 2015.

PANDOLFO, C. M.; VOGT, G. A.; BALBINOT JÚNIOR, A. A.; GALLOTI, G. J. M.; ZOLDAN, S. R. Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura. **Agropecuária Catarinense**, v. 27, n. 3, p. 94-99, 2015.

PARIZ, C. M. et al. Produtividade de grãos de milho e massa seca de braquiárias em consórcio no sistema de integração lavoura-pecuária. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 5, p. 875-882, 2011.

PASSOS, A. V. **Estudo de Épocas de Colheita e Desenvolvimento de Vagens de Feijão Guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.), para Obtenção de Grãos e Sementes Não Comerciais em Pequenas Unidades de Produção Familiar.**

2007. 32 f. Dissertação (Mestrado) - Pós Graduação em Agricultura Orgânica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

PENTEADO, S. R. **Adubos Verdes e produção de biomassa - Melhoria e recuperação dos solos.** Campinas: Livros Via orgânica, 2010. 172 p.

PEREIRA, N. D.; SOARES, I. PEREIRA, E. S. S. Uso de leguminosas como fonte alternativa de n nos agroecossistemas. **Revista Verde**, Pombal, v. 7, n. 5, p. 36-40, 2012.

PEREIRA, L. C. et al. Comportamento de cultivares de milho consorciados com *Crotalaria juncea*: estudo preliminar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 6, n. 3, p. 191-200, 2011.

PERIN, A. et al. Desempenho agrônômico de milho consorciado com feijão-de-porco em duas épocas de cultivo no sistema orgânico de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 13, n. 3, p. 903-908, 2007.

PIRAÍ SEMENTES. **Guandu-anão**. Disponível em: http://www.pirai.com.br/semente_feijao_guandu_forrageiro_anao-texto-b100.html. Acesso em: 12 Out. 2018.

POLY, F.; MONROZIER, L. J.; BALLY, R. Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of *nifH* genes in communities of nitrogen fixers in soil. **Research in Microbiology**, v. 152, p. 95 - 203.

QUEIROZ, L. R. **Leguminosas como fonte de nitrogênio para a cultura do milho, em Campos dos Goytacazes-RJ.** 2006. 83 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte do Fluminense, Campo dos Goytacazes.

RAIJ, B.V. et al. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**, 2.ed. Campinas: Instituto Agronômico, 1997. 285p. (Boletim técnico, 100).

RAJCAN, I.; SWANTON, C. Understanding maize-weed competition: resource competition, light quality and the whole plant. **Field Crop Research**, v. 71, p. 139-150, 2001

RAMOS, E. M. de; RAMOS JÚNIOR, E. U. Soja em sucessão ao milho segunda safra consorciado com diferentes densidades de *Crotalaria spectabilis*. In:

Encontro de Ciência e Tecnologias Agrossustentáveis; Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril, 2017, Sinop, **Anais...** Sinop:MT, 2017, p. 19-22.

RAYOL, B. P.; ALVINO-RAYOL, F. L. Uso de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) para adubação verde e manejo agroecológico de plantas espontâneas em reflorestamento no estado do Pará. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 7, n. 1, p. 104-110, 2012.

REED, S. C.; CLEVELAND, C. C.; TOWNSEND, A. R. Functional Ecology of Free-Living Nitrogen Fixation: A Contemporary Perspective. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 42, p. 489-512, 2011.

REINERT, D. J. et al. Limites críticos de densidade do solo para o crescimento de raízes de plantas de cobertura em argissolo vermelho, **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 32, n. 5, p. 1805-1816, 2008.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. Informações agronômicas, **Potafós**, v.103, p.1-19, 2003.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 331-338, 2006.

ROCHA, R. G. L.; RIBEIRO, M. C. C.; SILVA, F. D. B. da. Desenvolvimento inicial do feijão guandu em diferentes profundidades e posições da semente na vagem. **Agropecuária Científica do Semiárido**, v. 13, n. 4, 2017.

ROLIM, G. S.; SENTELHAS, P. C.; BARBIERI, V. Planilhas no ambiente EXCELTM para os cálculos de balanços hídricos: normal, sequencial, de cultura e de produtividade real e potencial. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.6, n.1, p.133-137, 1998.

SANGINGA, N. et al. Phosphorus requirement and nodulation of herbaceous and shrub legumes in low P soils of a Guinean savanna in Nigéria. **Applied Soil Ecology**, v. 3 p. 247-255, 1996.

SANGOI, L. et al. Cobertura nitrogenada como estratégia para reduzir os prejuízos da desfolha em diferentes estádios fenológicos do milho. **Semina**, v. 35, p. 190-196, 2013.

SANGOI, L. et al. Perfilhamento, área foliar e produtividade do milho sob diferentes arranjos espaciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 6, p. 609-616, 2011.

SILVA, A. A. et al. Métodos de controle de plantas daninhas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 367p.

SILVA, C. G. M. **Absorção e exportação de macronutrientes em milho transgênico sob dois níveis de investimento em adubação**. 2016, 52 p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de São João del-Rei, 2016.

SILVA, D. V. et al. Produtividade e teor de nutrientes do milho em consórcio com braquiária. **Ciência rural**, v. 45, n. 8, 2015.

SILVA, S. **Plantas forrageiras de A a Z**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2009. 225 p.

SILVEIRA, P. M. da; RAVA, C. A. **Utilização de crotalária no controle de nematoides da raiz do feijoeiro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 2 p. (Comunicado Técnico 74).

SIMONET, P. et al. Frankia genus-specific characterization by polymerase chain reaction. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 3278-3286, 1992.

TEIXEIRA, I. R.; MOTA, J. H.; SILVA, A. G. da. Consórcio de hortaliças. **Ciências Agrárias**, v. 26, n. 4, p. 507-514, 2005.

TEODORO, R. B. et al. Aspectos agronômicos de leguminosas para adubação verde no cerrado do Alto Vale do Jequitinhonha. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 35, p. 635-643, 2011.

TIMOSSI, P. C. et al. Produção de sementes de crotalaria juncea em diferentes épocas de semeadura no sudeste goiano. **Global Science & Technology**, Rio Verde, v. 7, n. 3, p. 58-66, 2014.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; HORTON, T. R. Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. **The Journal of Ecology**, v. 97, n. 6, p. 1139-1150, 2009.

VASCONCELLOS, C. A.; VIANA, M. C. M.; FERREIRA, J. J. Acúmulo de matéria seca e de nutrientes em milho cultivado no período inverno-primavera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, n.11, p.1835-1845, 1998.

VON PINHO, R. G. et al. Marcha de absorção de macronutrientes e acúmulo de matéria seca em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.8, n.2, 2009.

WILLER , H.; LERNOUD, J. **The World of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends**. FIBL & IFOAM – Organics international, Frick and Bonn, p. 92-95, 2018.

WOLF SEEDS. **Feijão guandu-anão (Cajanus cajan cv. Iapar 43)**. Disponível em: < www.wolfseeds.com/produtos/leguminosas/feijao-guandu-caqui>. Acesso em: 15 Jan. 2018.

WUTKE, E. B.; CALEGARI, A.; WILDNER, L. do P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para seu uso. In: LIMA FILHO, O. F. de L. et al. **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil**. p. 59-168, 2014.

YASUHARA, T.; NOKIHARA, K. High-throughput analysis of total nitrogen content that replaces the classic Kjeldahl method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.4581-4583, 2001.

YOSHIDA, F. A.; STOLF, R. Mapeamento digital de atributos e classes de solos da UFSCar - Araras/SP. **Ciência, Tecnologia e Ambiente**, v. 3, n. 1, p. 1-11, 2016.

ZANINE, A. de M.; SANTOS, E. M. Competição entre espécies de plantas: uma revisão. **Revista da FZVA**, v. 11, n. 1, p. 10-30, 2004.