

# Doses de nitrogênio e inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho em condições de solo fértil

## Rates of nitrogen and inoculation of *Herbaspirillum seropedicae* in corn culture in conditions of fertile soil

Érica de Oliveira Araújo<sup>1\*</sup> Antonio Carlos Tadeu Vitorino<sup>1</sup> y Fábio Martins Mercante<sup>2</sup>

Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533. <sup>2</sup> Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163, km 253,6, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. \*Autora para correspondência: [ericabb25@hotmail.com](mailto:ericabb25@hotmail.com)

Rec.:05.07.2014 Acep.: 28.10.2014

### Resumo

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) pode ser uma abordagem tecnológica útil para aumentar a produção de Gramíneas visto que alguns microrganismos, dentre os quais o gênero *Herbaspirillum* apresentam potencial para a FBN e produção de substâncias promotoras do crescimento. Assim, objetivou-se com o presente trabalho avaliar em condições de solo fértil, o desempenho agrônomo do milho (*Zea mays* L.) em função da inoculação das sementes com *Herbaspirillum seropedicae*, sob diferentes níveis de nitrogênio. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com cinco repetições, dispostos em arranjo fatorial 2 x 5, que corresponde a ausência e presença de *Herbaspirillum seropedicae* e cinco doses de nitrogênio (0, 48, 72, 96 e 120 kg/ha). Os parâmetros avaliados foram: altura de inserção de espiga, diâmetro do colmo, massa de espiga, comprimento de espiga, número de fileiras de grãos por espiga, número de grãos por espiga, diâmetro da base da espiga, massa de mil grãos, massa seca da parte aérea, produtividade, teor de clorofila e teor de N nas folhas de milho. Os resultados permitiram concluir que as plantas de milho, mesmo em solo fértil, respondem à aplicação de nitrogênio para altura de inserção de espiga, massa de espiga, comprimento de espiga, número de grãos por espiga, massa da parte aérea seca, massa de mil grãos, produtividade, teor de clorofila e teor de nitrogênio nas folhas de milho, sendo que nessas condições a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* não influenciou nenhuma das variáveis estudadas.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., fixação biológica de nitrogênio, inoculante.

### Abstract

Biological nitrogen fixation (FBN) plants can be a technological approach useful to increase the production of Gramineae since some microorganisms, among which the genus *Herbaspirillum* present potential for FBN and production of substances that promote growth. Thus, the objective of this work to evaluate in terms of fertile soil, maize (*Zea mays* L.). Agronomic performance in function of the inoculation of seeds with *Herbaspirillum seropedicae*, under different nitrogen levels. The experimental design used was randomized blocks with five repetitions, arranged in factorial 2x5, that corresponds to absence and presence of *Herbaspirillum seropedicae* with inoculation and five nitrogen rates (0, 48, 72, 96 and 120 kg/ha). The parameters evaluated were: spike insertion height, diameter of stem, mass of spike, spike length, number of rows of grains per spike, number of grains per spike, spike base diameter, weight of one thousand grains, dry mass of the shoot, productivity, chlorophyll content and N content the leaves of corn. The conclusion that corn plants, even in fertile soil, responds to the application of nitrogen to height of insertion of cob, Cob mass, spike length, number of grains per spike, mass of dry air mass part of thousand grains, productivity, chlorophyll content and nitrogen content in the leaves of maize, being that such conditions, inoculation of *Herbaspirillum seropedicae* did not influence any of the variables studied.

**Keywords:** *Zea mays* L., biological nitrogen fixation, inoculants.

## Introdução

O milho é uma cultura de importância econômica para o Estado de Mato Grosso do Sul. Quando se deseja alcançar alta produtividade, necessita-se a aplicação de grandes quantidades de nitrogênio (N), pois o teor fornecido pelo solo é aquém do necessário. Atrelado a isso faz-se o parcelamento dessa adubação, adicionando o N ao solo por ocasião da semeadura e em cobertura. Devido a sua dinâmica no solo, o N apresenta um manejo complexo, sendo, geralmente, o elemento mais oneroso no sistema de produção da cultura do milho (Bastos *et al.*, 2008).

Tendo em vista os custos ambientais e econômicos e o fato de que o Brasil importa atualmente 70% da ureia utilizada na agricultura, se faz necessário encontrar alternativas viáveis que visem à redução no seu uso (Quadros, 2009). Desse modo, a inoculação com bactérias diazotróficas pode ser uma alternativa biotecnológica na busca pela sustentabilidade, visto que estes microrganismos podem atuar na disponibilidade de N para a planta, contribuindo para redução da utilização de uréia na cultura do milho.

Entre as bactérias diazotróficas, destacam-se as do gênero *Herbaspirillum*, sendo bastante interessantes os estudos que envolvem a espécie *Herbaspirillum seropedicae*, pois, dentre as características dessa espécie, destaca-se a capacidade de colonizar o interior e a parte aérea dos tecidos vegetais (Baldani *et al.*, 1997), recebendo nutrientes diretamente do interior vegetal, e podendo expressar seu potencial para FBN no seu grau máximo (Kennedy *et al.*, 2004).

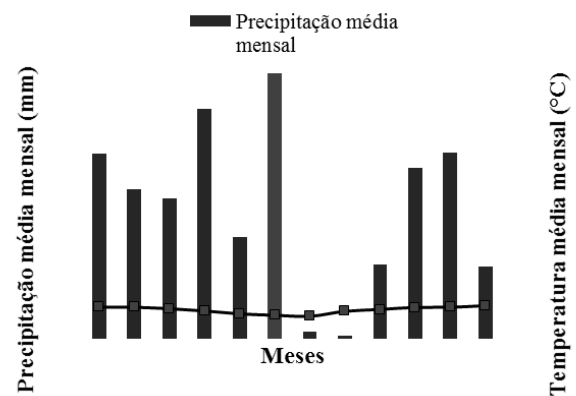
A interação positiva entre estas bactérias e o milho, bem como entre outras gramíneas tem sido demonstrada por vários autores (Dotto *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2011, Guimarães *et al.*, 2010; Sabino *et al.*, 2012) sendo, o maior obstáculo para a utilização desta tecnologia a inconsistência de resultados em condições de campo, ligada a fatores como condições edafoclimáticas e interações com a biota do solo (Reis, 2007). Apesar de muitos anos de pesquisa, observa-se respostas muito variáveis sob condições de solo fértil, o que mostra a importância e justifica a realização de experimentos a fim de se obter informações sobre a interação planta-bactéria-ambiente, pois a disponibilidade de N nos solos pode alterar o estado da planta e inibir, de

forma indireta, o estabelecimento da FBN, afetando a associação com o organismo diazotrófico (Muthukumarasamy *et al.*, 1999), de maneira a inibir a formação da corrente de infecção.

Diante do exposto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar em condições de solo fértil o desempenho agrônomico do milho em função da inoculação das sementes com *Herbaspirillum seropedicae*, sob diferentes níveis de nitrogênio.

## Material e métodos

O experimento foi realizado no campo experimental da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados-MS, de março a julho de 2012. As coordenadas geográficas são 22° 13' 16" S e 54° 17' 01" W, com altitude média de 452 m. O clima da região é do tipo Cwa (clima temperado úmido, com inverno seco e verão quente), segundo a classificação de Köppen. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférrico, de textura muito argilosa (Embrapa, 2013). Dados médios de temperatura e precipitação pluviométrica durante a condução do experimento foram obtidos na Estação Agrometeorológica da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados, MS (Figura 1).



**Figura 1.** Precipitação (mm) e temperatura (°C) médias mensais, registradas na estação meteorológica da Embrapa Agropecuária Oeste, Município de Dourados, MS, no ano de 2012.

Os resultados da análise química do solo, na profundidade de 0-20 cm são mostrados na Tabela 1. A análise granulométrica proporcionou os seguintes valores: 22.5% de areia, 12.5% de silte e 65% de argila.

**Tabela 1.** Análise química do solo, antes do plantio do milho.

Profundidade (cm)	pH (CaCl <sub>2</sub> )	M.O	C	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V
		g/dm <sup>3</sup>				mg/dm <sup>3</sup>				mmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>		
0-20	5.90	31.18	18.33	18.50	5.5	77.9	28.4	0.0	34.2	111.8	146.0	76.58

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados dispostos em esquema fatorial 2 (ausência e presença de inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*) x 5 (cinco doses de nitrogênio (0, 48, 72, 96 e 120 kg/ha) x 5 (cinco repetições), totalizando 50 unidades experimentais. As doses de N foram escolhidas com base nas recomendações atuais para agricultura irrigada em condições de cerrado brasileiro. Nestas condições, a dose de nitrogênio recomendada é de 120 kg/ha, no qual as demais doses foram fracionadas em 40, 60 e 80 % da dose recomendada para obtenção de elevadas produtividades, constituindo-se assim os tratamentos citados acima.

Foram utilizadas sementes do híbrido simples P3646H, sendo previamente inoculadas com a estirpe Z-94 de *Herbaspirillum seropedicae*, em veículo à base de turfa, produzido pela Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. A dose aplicada foi de 250 g para cada 10 kg de sementes de milho do inoculante com veículo à base de turfa. Visando aumentar a adesão do inoculante às sementes foram adicionados 60 mL para cada 10 kg de semente de uma solução açucarada a 10% (p/v).

Na semeadura, a adubação de base foi realizada a lanço, com posterior incorporação, aplicando-se 300 kg/ha da formulação 0-20-20 para o suprimento de 60 kg/ha de  $P_2O_5$  e  $K_2O$ , respectivamente. A semeadura foi realizada manualmente, com o auxílio de “matraca”, colocando-se duas sementes por cova, deixando-se após o desbaste seis plantas por metro linear. As unidades experimentais (parcelas) foram compostas por quatro linhas de seis metros de comprimento espaçadas em 0,90 m entre linhas. Foram eliminadas as duas linhas laterais e 0,5 m de cada extremidade da parcela, avaliando os cinco metros de cada uma das duas linhas centrais (área útil da parcela igual a 9 m<sup>2</sup>).

A adubação nitrogenada foi aplicada na dose 0 kg/ha de N, correspondente ao tratamento controle e na dose de 48 kg/ha de N no sulco de plantio, na forma de ureia (45%) em uma única aplicação. Para as doses de 72 e 96 kg/ha de N realizou-se o parcelamento em duas aplicações, sendo a primeira aplicação no sulco de plantio correspondente a 48 kg/ha de N, e a segunda em cobertura na quantidade de 24 kg/ha de N e 48 kg/ha de N na área total da parcela, quando as plantas apresentavam-se em estágio de desenvolvimento V4, cobrindo o total de 72 e 96 kg/ha de N, respectivamente. Para a dose de 120 kg/ha de N foi realizado a aplicação de 48 kg/ha de N no sulco de plantio e 72 kg/ha de N em cobertura, parcelada em duas aplicações de 36 kg/ha de N na área total da parcela, quando as plantas apresentavam-se em estágio de desenvolvimento V4 e V7. A área foi irrigada por sistema de aspersão após a implantação da cultura e em períodos de

maior déficit hídrico. Os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com as exigências da cultura.

No período de florescimento (aparecimento da inflorescência feminina), corresponde ao estágio fenológico R1 do milho, foram efetuadas amostragens foliares conforme metodologia proposta por Malavolta *et al.* (1997), a fim de determinar o teor de nitrogênio no tecido foliar do milho. Para tanto, coletou-se o terço médio com nervura da folha oposta e abaixo da inserção da espiga principal, num total de 10 folhas por unidade experimental e neste mesmo estágio fenológico foi determinado o teor de clorofila na folha (índice SPAD) com auxílio do clorofilômetro modelo SPAD-502. Todo o material vegetal coletado foi lavado em água corrente, solução de HCl a 0,1 mol/l e água deionizada. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secos em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 65°C, por 72 horas, e posteriormente moídas. As amostras moídas foram submetidas à digestão sulfúrica, seguida da determinação do teor foliar de N utilizando a metodologia descrita por Embrapa (2009).

A colheita do milho foi realizada manualmente, coletando-se todas as espigas da área útil da parcela (9 m<sup>2</sup>). Para a determinação dos componentes de produção amostrou-se 10 espigas por parcela, fora da área de produção de grãos. Os parâmetros avaliados foram: massa de espiga, comprimento de espiga, número de fileiras de grãos por espiga, número de grãos por espiga, diâmetro da base da espiga e massa de mil grãos. Na planta, foram avaliados a altura de inserção de espiga e o diâmetro do colmo. Para determinar a produtividade de grãos, as espigas foram debulhadas com o auxílio de uma máquina manual, e pesadas. Os resultados obtidos foram transformados para kg/ha, corrigindo-se a umidade para 13 % em base úmida. A massa da parte aérea seca das plantas foi estimada pela amostragem de três plantas dentro de cada parcela. A determinação da massa seca da parte aérea foi realizada por meio da secagem das amostras de plantas em uma estufa de circulação forçada, a uma temperatura de 65°C, por 72 horas. Os dados referentes à massa seca foram expressos em g planta.

Os dados de altura de inserção de espiga, diâmetro do colmo, massa de espiga, comprimento da espiga, diâmetro da espiga, fileira de grãos por espiga, número de grãos por espiga, massa da parte aérea seca, massa de mil grãos, produtividade, teor de clorofila e teor de nitrogênio nas folhas de milho foram submetidos à análise de variância e havendo diferença significativa entre os tratamentos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as variáveis com significância estatística (teste F)

em função das doses de N foi utilizada análise de regressão. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

## Resultados e discussão

Os resultados evidenciaram efeitos significativos ( $p \leq 0,05$ ) das doses de nitrogênio sobre a altura de inserção de espiga, massa de espiga, comprimento de espiga, número de grãos por espiga, massa da parte aérea seca, massa de mil grãos, produtividade, teor de clorofila e teor de nitrogênio nas folhas de milho (Tabela 2). A inoculação com a estirpe Z-94 de *Herbaspirillum seropedicae* e a interação nitrogênio (N) x inoculação (I) não influenciaram nenhuma das variáveis estudadas, ou seja, foi detectada ausência de efeitos decorrente da aplicação do inoculante com *H. seropedicae* às sementes de milho (Tabela 2).

A falta de sinergismo entre adubação nitrogenada e inoculação com bactérias diazotróficas é relativamente bem conhecido, mas ainda não totalmente esclarecido. Acredita-se que a disponibilidade de nitrogênio no solo altera o estado da planta e inibe, de forma indireta, o estabelecimento da FBN, isto porque metabolicamente é menos dispendioso para a planta utilizar o nitrogênio que está prontamente disponível no solo, ao invés de estabelecer uma associação com bactérias diazotróficas (Gyaneshwar *et al.*, 2002). Além disso, em solos ricos em N ocorre uma diminuição na liberação de exsudados radiculares pelas plantas, diminuindo o suprimento de C prontamente disponível para as bactérias

e, assim, a planta reduz os sinais bioquímicos emitidos aos microrganismos, o que afeta a associação com o organismo diazotrófico (Muthukumarasamy *et al.*, 1999). Segundo Oliveira *et al.* (2006) a FBN acontece em maior intensidade em solos de baixa à média fertilidade, pois este é um processo energeticamente caro aos microrganismos, sendo o tipo de solo determinante para o grau de contribuição da FBN.

Houve efeito quadrático significativo ( $P < 0,05$ ) sobre a altura de inserção de espiga de plantas de milho com o aumento das doses de N (Figura 2). A altura máxima de inserção de espiga correspondeu a 122.6 cm na dose de 48 kg/ha de N no sulco de plantio. Estes resultados são concordantes aos encontrados por Mar *et al.* (2003), em que altura de inserção de espiga de plantas

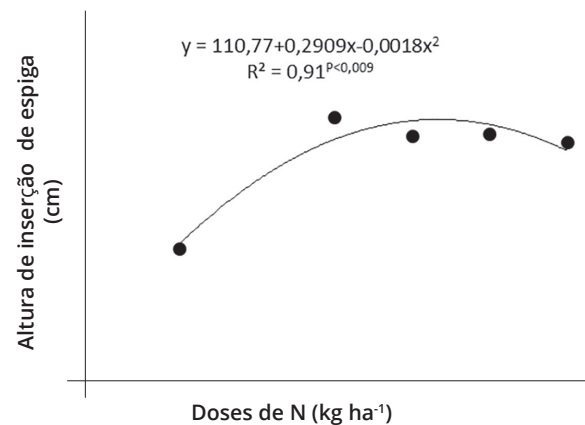


Figura 2. Altura de inserção de espiga em plantas de milho em resposta a adubação nitrogenada.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para altura de inserção de espiga (AIE), diâmetro do colmo (DIA), massa de espiga (ME), comprimento da espiga (CE), diâmetro da espiga (DE), fileira de grãos por espiga (FGE), número de grãos por espiga (NGE), massa da parte aérea seca (MPAS), massa de mil grãos (M1000), produtividade (PRO), teor de clorofila (CLO) e teor de nitrogênio (N) das folhas de milho em resposta a adubação nitrogenada e a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. Dourados, MS (2012).

Fonte de variação		GL						
		Quadrado médio						
		AIE	DIA	ME	CE	DE	FGE	
Bloco	4	123.22	5.23	239.44	0.23	1.29	0,45	
Nitrogênio (N)	4	243.32*	3.93	1507.07*	2.23*	6.27	1,21	
Inoculante (I)	1	264.50	1.99	371.66	0.42	11.73	0,76	
N*I	4	60.00	3.70	253.44	1.54	3.31	0,42	
Resíduo	36	65.00	2.73	339.73	0.45	2.96	0,26	
CV (%)		6.78	8.01	7.67	3.55	3.27	3,27	

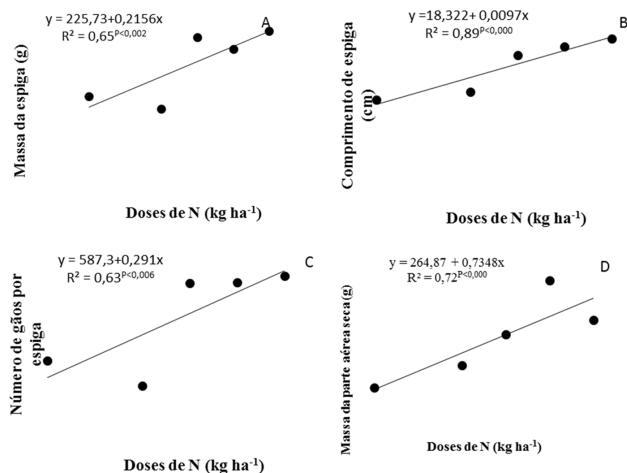
Fonte de variação		GL						
		Quadrado médio						
		NGE	MPAS	M1000	PRO	CLO	N	
Bloco	4	2700.85	4791.15	353.90	2273435.09	2.83	30,36	
Nitrogênio (N)	4	2860.52*	15966.31*	643.40*	2491902.93*	60.11*	204,15*	
Inoculante (I)	1	763.62	2360.94	0.03	497951.40	0.61	37,74	
N*I	4	619.10	990.77	149.24	1242595.94	12.83	46,94	
Resíduo	36	828.73	2280.49	230.02	787835.91	6.74	1791	
CV (%)		4.74	15.20	4.45	12.59	4.64	12,10	

\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

de milho respondeu de forma quadrática às doses crescentes de N (30, 60, 90, 120 e 150 kg/ha).

As doses de nitrogênio exerceram efeito linear crescente e significativo ( $P < 0.05$ ) sobre a massa de espiga, comprimento de espiga e número de grãos por espiga (Figura 3A, 3B e 3C). Sendo que estas variáveis aumentaram com o incremento das doses de N na ordem de 8.94%, 5.39% e 4.46%, respectivamente. Segundo Dotto *et al.* (2010) e Melo *et al.* (2011) a aplicação de doses crescentes de N em cobertura influencia significativamente a massa de espiga e o número de grãos por espiga, sob condições de solo fértil, com alto teor de matéria orgânica em regiões tropicais.

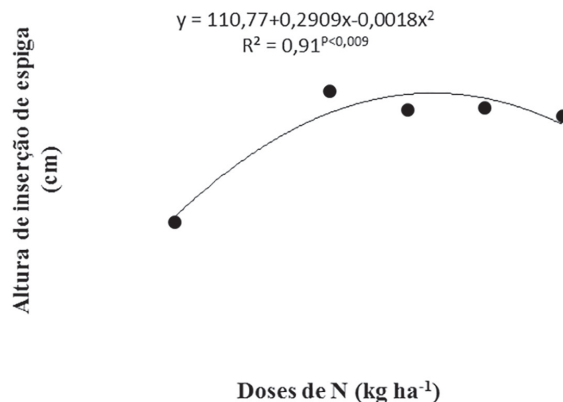
Um importante papel do N em assegurar alta produtividade de milho está no estabelecimento da capacidade do dreno reprodutivo. E, apesar da capacidade do dreno reprodutivo ser função do número e do tamanho dos grãos, o número de grãos por espiga se correlaciona mais intensamente com a produtividade de grãos de milho que qualquer outro componente da produção. O suprimento insuficiente de N durante o estágio de diferenciação floral pode reduzir o número de óvulos nos primórdios da espiga e, com isso, diminuir a produtividade de grãos (Ernani *et al.*, 2005).



**Figura 3.** Massa de espiga (A), comprimento de espiga (B), número de grãos por espiga (C) e massa da parte aérea seca (D) de plantas de milho em resposta a adubação nitrogenada.

O modelo matemático que melhor se ajustou à produção de massa da parte aérea seca de plantas de milho na maturação fisiológica foi o linear crescente (Figura 3D). Resultados similares foram obtidos por Gava *et al.* (2010), onde constataram que a elevação da dose de N-fertilizante resultou no aumento da massa seca e na taxa de produção de massa seca pela cultura do milho, e por Fernandes *et al.* (2006) em que observaram incremento massa seca de plantas de milho com aumento das doses de N (0, 30, 90 e 180 kg/ha).

A produtividade de grãos de milho aumentou linearmente com as doses de N, variando de 6310.03 kg/ha a 7568.42 kg/ha, com um incremento na ordem de 16.62% na dose de 120 kg/ha em relação ao controle (0 kg/ha de N) (Figura 4). Esse aumento demonstra que, apesar de o solo



**Figura 4.** Produtividade de plantas de milho em resposta a adubação nitrogenada.

possuir boa fertilidade e teor de MO (31.18 g/dm), houve considerável resposta à aplicação de nitrogênio, o que, provavelmente, está relacionado com o genótipo utilizado. A menor produtividade foi de 6310.03 kg/ha de massa de grãos, entretanto, esse valor encontra-se bem acima da produtividade média nacional das últimas safras (safra 11/12 e safra 12/13), que foi de 4949 kg/ha (Conab, 2013).

Concordando com os resultados encontrados por Soratto *et al.* (2010) e Kappes *et al.* (2009), que observaram incremento significativo da produtividade do milho com a aplicação de N, independentemente da fonte utilizada. Mar *et al.* (2003), Souza e Soratto (2006) e Bastos *et al.* (2008) constataram aumento da produtividade de grãos do milho com a aplicação de até 120 kg/ha de N e 180 kg/ha de N, respectivamente. Gava *et al.* (2010) verificaram que a produtividade de grãos de milho aumentou linearmente em função das doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg/ha de N) aplicadas no cultivo do milho em semeadura direta.

Salienta-se, que a produtividade de grãos da cultura de milho depende diretamente da atividade fotossintética da planta, e que esta depende da área foliar e do tempo de permanência das folhas em plena atividade na planta (Fancelli e Dourado Neto, 2000), o que, por sua vez, depende do estado nutricional da planta, principalmente N, em virtude de esse nutriente estar relacionado diretamente com a divisão e a expansão celular, influenciando o crescimento e o desenvolvimento da planta (Taiz e Zeiger, 2009).

Nas adubações nitrogenadas, é importante que a quantidade de N a ser aplicada na cultura do milho seja a mais exata possível, minimizando tanto os excessos, que prejudicam a qualidade ambiental e oneram a produção, quanto as quantidades deficientes, que comprometem a produtividade projetada (Amado *et al.*, 2002).

A massa de mil grãos foi aumentada pela aplicação de doses de N (Figura 5). Observa-se que o aumento dessa variável foi até a dose máxima de 72 kg/ha de N, proporcionando aumento de 5. % em relação ao controle (0 kg/ha de N). Resultados similares foram obtidos por Soratto *et al.* (2010), onde encontraram aumento na massa de mil grãos até a dose máxima estimada de 78, 5 kg/ha de N; e por Dotto *et al.* (2010) no qual a aplicação de N em cobertura influenciou significativamente a massa de mil grãos de plantas de milho. O N desempenha importante papel como constituinte essencial dos aminoácidos, participando diretamente da biossíntese de proteínas e clorofilas. Assim, como a formação dos grãos depende de proteínas na planta, a massa dos grãos e a produtividade estão diretamente relacionadas com o suprimento de N (Below, 2002).

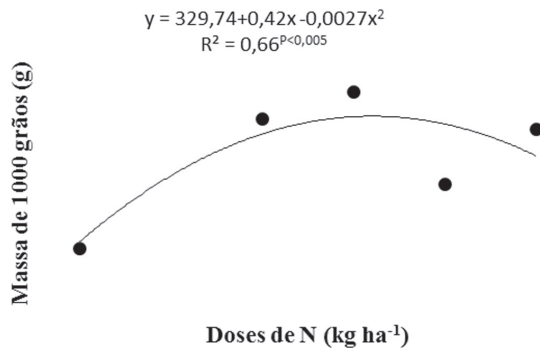


Figura 5. Massa de mil grãos de plantas de milho em resposta a adubação nitrogenada.

As leituras médias do índice SPAD nas folhas de milho aumentaram linearmente com as doses de N (Figura 6A). Aumento no teor de clorofila em função de doses de N foi observado por Melo *et al.* (2012), Jordão *et al.* (2010), Jakelaitis *et al.* (2005) e Argenta *et al.* (2003) para a cultura do milho. O teor de clorofila na folha é utilizado para prever o nível nutricional de nitrogênio em plantas, devido ao fato de a quantidade desse pigmento correlacionar-se positivamente com teor de N (Booij *et al.*, 2000). Este pigmento está diretamente associado ao potencial de atividade fotossintética, assim como o estado nutricional das plantas está associado, geralmente, a quantidade e qualidade da clorofila (Zotarelli *et al.*, 2003).

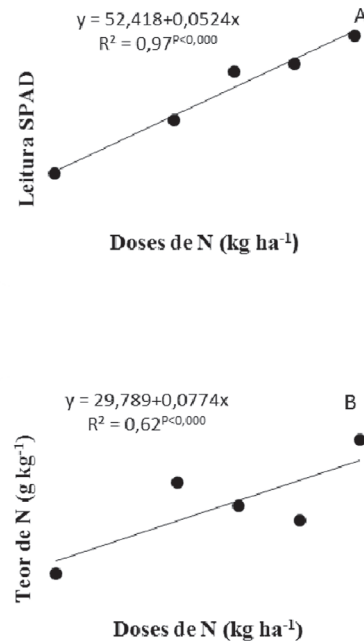


Figura 6. Leitura do teor de clorofila total (índice SPAD) (A) e teor de nitrogênio (B) nas folhas de milho por ocasião do florescimento em resposta a adubação nitrogenada.

O teor de N nas folhas foi influenciado positivamente pelas doses de N aplicadas (Figura 6B). Verifica-se que as doses de N aumentaram linearmente os teores desse elemento na folha do milho. Mar *et al.* (2003) também verificaram aumento no teor foliar de N no milho safrinha, em função da aplicação de N em cobertura. Contudo, no presente trabalho, mesmo no tratamento controle (0 kg/ha), o teor de N estava na faixa considerada adequada (27 - 35 g/kg) por Cantarella *et al.* (1996). Esse fato pode ser resultado da disponibilização de razoáveis quantidades desse nutriente mediante o processo de mineralização da matéria orgânica do solo, que no presente solo era de 31.18 g/dm.

## Conclusões

As plantas de milho, mesmo em solo fértil, responde à aplicação de nitrogênio para altura de inserção de espiga, massa de espiga, comprimento de espiga, número de grãos por espiga, massa da parte aérea seca, massa de mil grãos, produtividade, teor de clorofila e teor de nitrogênio nas folhas de milho, sendo que nessas condições a inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* não influenciou nenhuma das variáveis estudadas, podendo-se inferir que os solos de baixa à média fertilidade são potencialmente mais favoráveis para estes microrganismos expressarem seu grau máximo para fixação biológica de nitrogênio.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Federal da Grande Dourados, à Embrapa Agropecuária Oeste, à Embrapa Agrobiologia e a CAPES pela disponibilização de recursos e concessão de bolsa de doutorado ao primeiro autor.

## Referências

- Amado, T.J.C.; Mielniczuk, J.; e Aita, C. 2002. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema de plantio direto. *Rev. Bras. Ciên. do Solo*. 26: 241-248.
- Argenta, G.; Silva, P.R.F.; Fosthofer, E.L.; Strieder, M.L, Suhre, E.; & Teichmann, L.L. 2003. Adubação nitrogenada em milho pelo monitoramento do nível de nitrogênio na planta por meio do clorofilômetro. *Rev. Bras. Ciên. do Solo*. 27: 109-119.
- Baldani, J.I.; Caruso, L.; Baldani, V.L.D.; Goi, S.R.; & Dobereiner, J. 1997. Recent advances in FBN with non-legume plants. *Soil Biol*. 29 (5): 911-922.
- Bastos, E. A.; Cardoso, M.J.; Melo, F.B.; Ribeiro, V.Q.; e Andrade Junior, A.S. 2008. Doses e formas de parcelamento de nitrogênio para a produção de milho sob plantio direto. *Rev. Ciên. Agron*. 39 (2): 275-280.
- Below, F.E. 2002. Fisiologia, nutrição e adubação nitrogenada do milho. *Informações Agronômicas*. 99: 7-12.
- Booij, R.; Valenzuela, J.L.; e Aguilera, C. 2000. *Determination of crop nitrogen status using non-invasive methods*. In: Haverkort, A.J.; Mackerron, D.K.L. (Eds.). *Management of nitrogen and water in potato production*. The Netherlands, Wageningen Pers, p. 72-82.
- Cantarella, H.; Raij, B.V.; e Camargo, C.E.O. 1996. In: Raij, B. V. *et al.* (Ed.). *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. 2. ed. Campinas: Instituto Agronômico. p. 45-71.
- Conab. 2013. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2011/2012: Oitavo Levantamento, Fevereiro/2013, Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília, CONAB, 27p.
- Dotto, A.P.; Lana, M.C.; Steiner, F.; e Frandoloso, J.F. 2010. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. *Rev. Bras. de Ciên. Agrárias*. 5 (3): 376-382.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2013. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3 Ed. rev. ampl.- Brasília, DF: Embrapa Solos. 353p.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa. 2009. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.- 2. Ed, Brasília., Embrapa Informação Tecnológica. 627 p.
- Ernani, P.R. Sangoli, L.; Lech, V.A.; e Rampazzo, C. 2005. A forma de aplicação da uréia e dos resíduos vegetais afeta a disponibilidade de nitrogênio. *Ciên. Rural*. 35 (2): 360-365.
- Fancelli, A.L.; e Dourado Neto, D. 2000. Produção de milho. Guaíba: Agropecuária. p.360.
- Fernandes, F.C.C.; Buzetti, S.; Arf, O.; e Andrade, A.C. 2005. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. *Rev. Bras. de Milho e Sorgo*. 4 (2):195-204.
- Ferreira, D.F. 2000. Sistema de análises de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA.
- Ferreira, J.S.; Guimarães, S.L.; Baldani, V.L.D. 2011. Produção de grãos de arroz em função as inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. *Enciclop. Bios*. 17 (13): 826-833.
- Gava, G.J.C.; Oliveira, M.W.; Silva, M.A.; Jerônimo, E.M.; Cruz, J.C.S.; e Trivelin, P.C.O. 2010. Produção de fitomassa e acúmulo de nitrogênio em milho cultivado com diferentes doses de 15N-uréia . Semina: *Ciên. Agrárias*. 31 (4): 851-862.
- Gyaneshwar, P.; James, E.K.; Reddy, P.M.; e Ladha, J. 2002. *Herbaspirillum* colonization increases growth and nitrogen accumulation in aluminium-tolerant rice varieties. *New Phytologist*. 154: 131-145.
- Guimarães, S.L.; Campos, D.T.S.; Baldani, V.L.D.; e Jacob-Neto, J. 2010. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. *Rev. Caatinga*. 23 (4): 32-39.
- Jakelaitis, A.; Silva, A.A.; e Ferreira, L.R. 2005. Efeito do nitrogênio sobre o milho cultivado em consórcio com *Brachiaria brizantha*. *Acta Scient*. 27(1): 39-46.
- Jordão, L.T.; Lima, F.F.; Lima, R.S.; Moretti, P.A. E M.; Pereira, H.V.; Muniz, A.S.; e Oliveira, M.C.N. 2010. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: FertBio, 2010, Guarapari. Fontes de nutrientes e produção agrícola: modelando o futuro: Anais... Viçosa: SBCS. p.4.
- Kappes, C.; Carvalho, M.A.C.; Yamashita, O.M.; e Silva, J.A.N. 2009. Influência do nitrogênio no desempenho produtivo do milho cultivado na segunda safra em sucessão à soja. *Pesq. Agrop. Tropical*. 39 (3): 251-259.
- Kennedy, I.R.; Choudhury, A.T.M.A.; e Kecskés, M.L. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 36 (8): 1229-1244.
- Malavolta, E.; Vitti, G.C.; e Oliveira, S.A. 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2 ed. Piracicaba: POTAFOS. p.319.
- Mar, G.D.; Marchetti, M.E.; Souza, L.C. F.; Gonçalves, M.C.; e Novelino, J.O. 2003. Produção do milho safrinha em função de doses e épocas de aplicação de nitrogênio. *Brag*. 62 (2): 267-274.
- Mello, N. 2012. Inoculação de *Azospirillum brasilense* nas culturas de milho e trigo. Dissertação Mestrado. Passo Fundo: UPF, 2012. 90 p.
- Melo, F.B.; Corá, J.E.; e Cardoso, M.J. 2011. Fertilização nitrogenada, densidade de plantas e rendimento de milho cultivado no sistema plantio direto. *Rev. Ciên. Agron*. 42 (1): 27-31.
- Muthukumarasamy, R.; Revathi, G.; e Lakshminarasimhan, C. 1999. Influence of N fertilization on the isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum spp.* from Indian sugarcane varieties. *Biol. and Fert. of Soils*. 29 (2): 157-164.
- Oliveira, A.L.M. de; Canuto, E. de L.; Urquiaga, S.; Reis, V.M.; e Baldani J.I. Yield of micropropagated sugarcane varieties in different soil types following

- inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. *Plant and Soil*, v.284, p.23-32,2006.
- Quadros, P.D. 2009. Inoculação de *Azospirillum spp.* em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul. Porto Alegre: UFRGS. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 63 p.
- Reis, V.M. 2007. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. p.22.
- Sabino, D.C.C.; Ferreira, J.S.; Guimarães, S.L.; e Baldani, V.L. D. 2012. Bactérias diazotróficas como promotoras do desenvolvimento inicial de plântulas de arroz. *Enciclop. Bios*. 8 (15): 2337-2345.
- Soratto, R.P.; Pereira, M.; Costa, T.A.M.; e Lampert, V.N. 2010. Fontes alternativas e doses de nitrogênio no milho safrinha em sucessão à soja. *Rev. Ciên. Agron.* 41 (4): 511-518.
- Souza, E.F.C.; e Soratto, R.P. 2006. Efeito de fontes e doses de nitrogênio em cobertura, no milho safrinha, em plantio direto. *Rev. Bras. de Milho e Sorgo*. 5 (3): 387-397.
- Taiz, L.; e Zeiger, E. *Fisiologia vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.
- Zotarelli, L.; Cardoso, E.G.; Piccinin, J.L.; Urquiagua, S.; Boddey, R.M.; Torres, E.; e Alves, B.J. 2003. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de nitrogênio do milho. *Pesq. Agrop. Bras.* 38 (9): 1117-1122.