

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ALBERTO YUJI NUMOTO

RESPOSTA DO MILHO DOCE À APLICAÇÃO DE DIFERENTES DOSES  
DE INOCULANTE (*Azospirillum brasilense*) ASSOCIADA À ADUBAÇÃO  
NITROGENADA

Maringá  
2014

ALBERTO YUJI NUMOTO

RESPOSTA DO MILHO DOCE À APLICAÇÃO DE DIFERENTES DOSES  
DE INOCULANTE (*Azospirillum brasilense*) ASSOCIADA À ADUBAÇÃO  
NITROGENADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de Concentração: Produção Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Pedro Soares Vidigal Filho

Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim

Maringá  
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

N971r Numoto, Alberto Yuji  
Resposta do milho doce à aplicação de  
diferentes doses de inoculante (*Azospirillum  
brasilense*) associada à adubação nitrogenada /  
Alberto Yuji Numoto. -- Maringá, 2014.  
xiv, 86 f. : figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Soares Vidigal  
Filho. Coorientador: Prof. Dr. Carlos Alberto  
Scapim. Dissertação (mestrado) - Universidade  
Estadual de  
Maringá, Centro de Ciências Agrárias,  
Departamento de Agronomia, Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia, 2014.

1. *Zea mays* L. 2. Milho especial. 3.  
Bactérias diazotróficas. 4. Nitrogênio. 5. Milho  
doce - Produtividade de espigas. I. Vidigal  
Filho, Pedro Soares, 1956-, orient. II. Scapim,  
Carlos Alberto, coorient. III. Universidade  
Estadual de Maringá. Centro de Ciências  
Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de  
Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 21.ed. 635.672

GVS-002664

ALBERTO YUJI NUMOTO

RESPOSTA DO MILHO DOCE À APLICAÇÃO DE DIFERENTES DOSES  
DE INOCULANTE (*Azospirillum brasilense*) ASSOCIADA À ADUBAÇÃO  
NITROGENADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

---

Prof. Dr. Pedro Soares Vidigal Filho  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

---

Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim  
Universidade Estadual de Maringá

---

Prof. Dra. Maria do Carmo Lana  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Aprovada em: 21 de fevereiro de 2014.

Local da defesa: Sala 137, Bloco J45, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

## **DEDICATÓRIAS**

**Aos meus pais, Jiro Numoto e Catarina T. H. Numoto;  
Às minhas irmãs, Renata e Monika;  
À minha esposa (Tatiane) pelo carinho, amizade e exemplo de vida.**

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me guiar sempre pelo caminho certo da vida;

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PGA) pela oportunidade de ingressar no curso de Mestrado no ano de 2012;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo;

À Fundação Araucária e o CNPq pelo financiamento do projeto que proporcionaram a realização do presente trabalho;

Ao orientador Prof. Dr. Pedro Soares Vidigal Filho pela orientação, amizade e ensinamentos durante o período de estudo;

Ao co-orientador Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim pelos ensinamentos que foram fundamentais para o término deste trabalho;

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria do Carmo Lana pela disposição em participar da banca examinadora do presente trabalho;

Aos funcionários da secretaria do PGA, em especial à Érika Cristina Takamizawa Sato pela atenção e dedicação;

Aos amigos do grupo de pesquisa da Universidade Estadual de Maringá, Antônio A. N. Franco, Alex T. Ortiz, Gustavo Zimmermann, Odair J. Marques, Ricardo S. Okumura e Vinícius B. Cortinove pelas valorosas contribuições durante a condução dos experimentos;

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), Francisco Luiz Raimundo e Antônio Rodrigues Queiroz Filho pela colaboração durante a condução dos experimentos;

E a todos que contribuíram de alguma forma para conclusão deste trabalho.

## **EPÍGRAFE**

**“A terra é a mãe de todos nós-plantas, animais e homens. O fósforo e o cálcio da terra constroem nossos esqueletos e sistema nervoso. Tudo o que os nossos corpos necessitam, exceto ar e sol, vem da terra”**

Henry Wallace, 1938  
Citado por Malavolta, 2006

## Resposta do Milho Doce à Aplicação de Diferentes Doses de Inoculante (*Azospirillum brasilense*) Associada à Adubação Nitrogenada

### RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as características fenotípicas do milho doce em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada na Safra de “Verão” de 2012/2013 e Safra de “Outono-Inverno” de 2013, no Noroeste do Paraná. Os experimentos foram realizados na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), localizada no Distrito de Iguatemi, município de Maringá, Paraná. O delineamento experimental foi de blocos completos com tratamentos casualizados, com quatro repetições, no esquema fatorial 5 x 2 x 2, sendo 5 níveis de inoculação (0, 50, 100, 150 e 200 mL ha<sup>-1</sup>) contendo *Azospirillum brasilense* (estirpes AbV5 e AbV6), 2 níveis de adubação nitrogenada na semeadura (0 e 30 kg ha<sup>-1</sup>), dois níveis em cobertura (0 e 110 kg ha<sup>-1</sup>) e, um híbrido simples modificado de milho doce (RB 6324) do grupo superdoce. As variáveis respostas avaliadas foram: altura de plantas, índice de área foliar, teor de nitrogênio na folha, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira, produtividade de espigas despalhadas, produtividade de espigas comerciais despalhadas, teor de açúcares totais e de proteína nos grãos. O resultado da análise estatística dos dados demonstrou que a inoculação com a bactéria *Azospirillum brasilense* afetou positivamente o índice de área foliar, produtividade de espigas comerciais despalhadas, bem como o teor de proteína e açúcares totais nos grãos em associação com a adubação nitrogenada na Safra de “Verão”. Enquanto que na Safra de “Outono-Inverno” as variáveis respostas índice de área de foliar, teor de açúcares totais e produtividade de espigas despalhadas foram influenciados positivamente pela inoculação, via tratamento de sementes. Por outro lado, em ambas as safras agrícolas não foram observadas efeitos significativos da inoculação e da adubação nitrogenada no número de fileiras de grãos por espiga e no número de grãos por fileira. Conclui-se que o uso de *A. brasilense* no tratamento de sementes do milho doce pode aumentar a renda líquida do agricultor, uma vez que afeta positivamente a qualidade química dos grãos e a densidade de espigas.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L.. Milho especial. Bactérias diazotróficas. Inoculação. Nitrogênio. Produtividade de espigas.



## Response of Sweet Corn the Application of Different Doses of Inoculant (*Azospirillum brasilense*) Associated with Nitrogen Fertilization

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the phenotypic characteristics of sweet corn as a function of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* associated with nitrogen fertilization at "Summer" Harvest of 2012/2013 and "Autumn-Winter" of 2013, in Parana Northwest. The experiments were conducted at the Experimental Farm of Iguatemi (EFI), located in the district of Iguatemi, Maringa, Parana. The experimental design was randomized complete block with treatments with four replications in a factorial 5 x 2 x 2, with 5 levels of inoculation (0, 50, 100, 150 and 200 mL ha<sup>-1</sup>) containing *Azospirillum brasilense* (AbV5 and AbV6 strains), 2 levels of nitrogen fertilizer at sowing (0 and 30 kg ha<sup>-1</sup>), two levels in coverage (0 and 110 kg ha<sup>-1</sup>), and one simple hybrid modified (RB 6324) of group supersweet. The variables evaluated were plant height, leaf area index, leaf nitrogen content, number of rows per ear, number of kernels per row, productivity without husk, husked productivity of commercial ears, total sugar content and protein in the seeds. Statistical analysis of the data showed that inoculation with the bacterium *Azospirillum brasilense* positively affected the leaf area index, productivity of commercial ears husked, and the content of protein and total sugars in the grains in combination with nitrogen fertilizer on "Summer" Harvest. While in "Autumn-Winter" Harvest the response variables of leaf area index, total sugar content and yield of husked ears were positively influenced by inoculation by seed treatment. Moreover, in both growing seasons no significant effects of inoculation and nitrogen fertilization were observed in the number of kernel rows per ear and number of grains per row. Concludes that the use of *Azospirillum brasilense* in the treatment of sweet corn seeds can increase the net income of the farmer, since it positively affects the chemical quality of the grains and the density of ears.

**Keywords:** *Zea mays* L.. Special corn. Diazotrophic bacteria. Inoculation. Nitrogen. Productivity ears.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Resultados da análise química do material de solo da área experimental referentes à Safra de “Verão” de 2012/2013 e de “Outono-Inverno” de 2013, em duas profundidades de coleta (0-20 e 20-40 cm) <sup>1</sup> .....	22
<b>Tabela 2.</b>	Principais características agronômicas do híbrido de milho doce RB 6324 <sup>1</sup> .....	23
<b>Tabela 3.</b>	Índice de área foliar (IAF) desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura e dentro dos níveis do fator N em cobertura, na média das cinco doses de inoculante sobre na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	35
<b>Tabela 4.</b>	Teor de nitrogênio na folha índice (TNF) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na semeadura na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	37
<b>Tabela 5.</b>	Produtividade de espigas despalhadas (PED) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na semeadura na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	39
<b>Tabela 6.</b>	Teor de proteína nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N em cobertura, em função das doses de N aplicadas na semeadura dentro de cada dose de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	43
<b>Tabela 7.</b>	Teor de proteína nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura, em função das doses de N aplicadas em cobertura dentro de cada dose de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	44
<b>Tabela 8.</b>	Teor de açúcares totais nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura, em função das doses de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	46
<b>Tabela 9.</b>	Teor de açúcares totais nos grãos (AT) desdobrados dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na semeadura na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	47
<b>Tabela 10.</b>	Resumo da análise econômica do milho doce em função da inoculação com <i>Azospirillum brasilense</i> (estirpes AbV5 e AbV6) na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná.....	48

<b>Tabela 11.</b>	Altura de plantas (m) desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura e dentro dos níveis do fator N em cobertura, na média das cinco doses de inoculante sobre a na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	49
<b>Tabela 12.</b>	Índice de área foliar (IAF) desdobrado dentro das doses de N aplicadas na semeadura, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas em cobertura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	51
<b>Tabela 13.</b>	Índice de área foliar (IAF) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N da semeadura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	51
<b>Tabela 14.</b>	Teor de nitrogênio na folha índice (TNF) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N da semeadura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	52
<b>Tabela 15.</b>	Produtividade de espigas despalhadas (PED) desdobrado dentro das doses de N aplicadas na semeadura, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> ....	56
<b>Tabela 16.</b>	Produtividade de espigas despalhadas (PED) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N da semeadura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	56
<b>Tabela 17.</b>	Produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na semeadura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	57
<b>Tabela 18.</b>	Teor de proteína (TP) nos grãos de milho doce desdobrado dentro das doses de N aplicadas na semeadura, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas em cobertura no estágio V <sub>4</sub> na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> ....	59
<b>Tabela 19.</b>	Teor de açúcares totais nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N em cobertura, em função das doses de N aplicadas na semeadura dentro de cada dose de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	60
<b>Tabela 20.</b>	Teor de açúcares totais nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura, em função das doses de N aplicadas em	

	cobertura dentro de cada dose de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná <sup>1</sup> .....	61
<b>Tabela 21.</b>	Resumo da análise econômica do milho doce em função das doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no estádio V <sub>4</sub> da cultura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná.....	62
 <b>APÊNDICE</b>		
<b>Tabela 1A.</b>	Características do inoculante contendo <i>Azospirillum brasilense</i> usado na Safra de “Verão” de 2012/2013 e na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná.....	85
<b>Tabela 2A.</b>	Resumo da análise de variância individual das características fenotípicas altura de plantas (AP), índice de área foliar (IAF), teor de N foliar (TNF), número de fileiras de grãos por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), produtividade de espigas despalhadas (PED), produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD), teor de proteína (TP) e teor de açúcares totais (AT) do milho doce na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná.....	85
<b>Tabela 3A.</b>	Resumo da análise de variância individual das características fenotípicas altura de plantas (AP), índice de área foliar (IAF), teor de N foliar (TNF), número de fileiras de grãos por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), produtividade de espigas despalhadas (PED), produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD), teor de proteína (TP) e teor de açúcares totais (AT) do milho doce na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná.....	86

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Precipitação pluvial (mm), temperatura máxima (°C), mínima (°C) e média (°C) observadas durante a condução dos experimentos da Safra de “Verão” de 2012/2013 (A) e de “Outono-Inverno” de 2013 (B), em Maringá, Noroeste do Paraná. Fonte: Laboratório de Análise de Sementes da FEI-UEM.....	21
<b>Figura 2.</b>	Índice de área foliar em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes na Safra de “Verão” de 2012/2013 em Maringá, Noroeste do Paraná. Média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura.....	35
<b>Figura 3.</b>	Produtividade de espigas comerciais despalhadas em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. Média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura. ....	41
<b>Figura 4.</b>	Teor de proteína (%) nos grãos do milho doce (RB 6324) em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes, associado à adubação nitrogenada na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. I- Apenas inoculante; II- Adubação nitrogenada em cobertura; III- Adubação nitrogenada na semeadura; e IV- Adubação nitrogenada na semeadura e em cobertura. ....	43
<b>Figura 5.</b>	Teor de açúcares totais (%) nos grãos do milho doce (RB 6324) em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes combinadas com adubação nitrogenada na semeadura na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. Média das duas doses de N aplicadas no estágio V <sub>4</sub> da cultura. I- 0,0 kg ha <sup>-1</sup> ; e II- 30,0 kg ha <sup>-1</sup> .....	46
<b>Figura 6.</b>	Índice de área foliar em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. Média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura.....	51
<b>Figura 7.</b>	Produtividade de espigas despalhadas em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes. Média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. ....	55
<b>Figura 8.</b>	Teor de açúcares totais nos grãos em função das doses de inoculante em associação com as doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. I- Ausência da adubação nitrogenada; II- Adubação nitrogenada na semeadura; III- Adubação nitrogenada em cobertura; e IV- Adubação nitrogenada na semeadura e em cobertura. ....	60

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>x</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. Hipóteses .....	3
1.2. Objetivo.....	3
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
2.1. MILHO DOCE .....	4
2.2. EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS .....	6
2.3. NITROGÊNIO .....	8
2.3.1. Planta .....	9
2.3.2. Dinâmica no solo .....	10
2.3.3. Adubação nitrogenada na cultura do milho .....	12
2.4. BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS: Gênero <i>Azospirillum</i> .....	15
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
3.1. LOCALIZAÇÃO .....	20
3.2. CLIMA.....	20
3.3. SOLO .....	21
3.4. PERÍODO DE REALIZAÇÃO .....	22
3.5. TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	22
3.6. IMPLANTAÇÃO DOS EXPERIMENTOS .....	23
3.6.1. Características das unidades experimentais.....	23
3.6.2. Preparo da área experimental .....	24
3.6.3. Inoculação das sementes de milho doce .....	24
3.6.4. Semeadura e população de plantas .....	24
3.6.5. Adubação de semeadura .....	25
3.6.6. Adubação de cobertura .....	25
3.6.7. Tratos culturais e fitossanitários .....	25
3.6.8. Irrigação.....	26
3.6.9. Colheita.....	26

3.7.	AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DE NITROGÊNIO DA PLANTA	26
3.7.1.	Teor de nitrogênio na folha (TNF)	26
3.8.	AVALIAÇÕES FITOTÉCNICAS DA PARTE AÉREA DAS PLANTAS	27
3.8.1.	Altura de plantas (AP)	27
3.8.2.	Índice de área foliar (IAF)	27
3.9.	AVALIAÇÕES FITOTÉCNICAS DE COMPONENTES DE PRODUÇÃO	27
3.9.1.	Número de grãos por fileira (NGF)	27
3.9.2.	Número de fileiras de grãos por espiga (NFE)	28
3.9.3.	Produtividade de espigas despalhadas (PED)	28
3.9.4.	Produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD)	28
3.10.	PÓS-COLHEITA DAS ESPIGAS	28
3.11.	AVALIAÇÕES DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS GRÃOS	28
3.12.1.	Teor de Proteína (TP)	29
3.12.2.	Teor de Açúcares totais (AT)	30
<b>4.</b>	<b>ANÁLISES ESTATÍSTICAS</b>	<b>31</b>
<b>5.</b>	<b>ANÁLISE ECONÔMICA</b>	<b>32</b>
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>33</b>
6.2.	Safra de “Verão”	33
6.2.1.	Avaliações fitotécnicas da parte aérea das plantas	33
6.2.1.1.	Altura de plantas (AP)	34
6.2.1.2.	Índice de área foliar (IAF)	34
6.2.2.	Teor de nitrogênio na folha (TNF)	36
6.2.3.	Avaliações fitotécnicas dos componentes de produção	37
6.2.3.1.	Número de fileiras de grãos por espiga (NFE)	37
6.2.3.2.	Número de grãos por fileira (NGF)	38
6.2.3.3.	Produtividade de espigas despalhadas (PED)	38
6.2.3.4.	Produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD)	40
6.2.4.	Composição química dos grãos	41
6.2.4.1.	Teor de Proteína (TP)	41
6.2.4.2.	Teor de Açúcares totais (AT)	45
6.2.5.	Análise econômica	47
6.3.	Safra de “Outono-Inverno”	48
6.3.1.	Avaliações fitotécnicas da parte aérea das plantas	48

6.3.1.1. Altura de plantas (AP) .....	49
6.3.1.2. Índice de área foliar (IAF) .....	50
6.3.2. Teor de nitrogênio na folha (TNF) .....	52
6.3.3. Avaliações fitotécnicas dos componentes de produção.....	53
6.3.3.1. Número de fileiras de grãos por espiga (NFE) .....	53
6.3.3.2. Número de grãos por fileira (NGF) .....	54
6.3.3.3. Produtividade de espigas despalhadas (PED).....	55
6.3.3.4. Produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD).....	57
6.3.4. Composição química dos grãos .....	58
6.3.4.1. Teor de Proteína (TP) .....	58
6.3.4.2. Teor de Açúcares totais (AT) .....	59
6.3.5. Análise econômica.....	62
<b>7. CONCLUSÕES .....</b>	<b>64</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>65</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>84</b>



## 1. INTRODUÇÃO

O milho doce é uma das hortaliças mais populares nos Estados Unidos e no Canadá, sendo consumida, preferencialmente, “*in natura*” pela população e também utilizado pela indústria de enlatados (BOYER; SHANNON, 1983; TRACY, 2001). O Brasil, como um dos maiores produtores de milho comum do mundo (terceiro lugar), possui, também, potencial para a produção de milho doce. No ano de 2012, a área mundial cultivada com a cultura do milho verde foi de 1.125.915,64 hectares com produção estimada de 9.764.006,19 Mg de espigas verdes (FAO, 2014). No Brasil, apenas 36.000 hectares são cultivados com milho doce, sendo que, praticamente 100 % da produção são destinados ao processamento industrial (BARBIERI et al., 2005). Os principais estados produtores desta hortaliça são Goiás, Rio Grande do Sul, São Paulo e Minas Gerais. Atualmente, o estado de Goiás é o maior produtor da hortaliça, com a finalidade de exportar o produto colhido.

Segundo Gama et al. (1992), um dos fatores que não permitiu difundir mais rapidamente o consumo do milho doce entre os consumidores brasileiros foi a inexistência de cultivares adaptadas às nossas condições ambientais. Atualmente, devido ao crescente interesse por este mercado, algumas empresas do setor de sementes mantêm programas de melhoramento genético, resultando em maior número de híbridos comerciais. Desta forma, é necessário estudar o manejo adequado para os híbridos de milho doce, principalmente, a adubação nitrogenada.

Os fertilizantes nitrogenados representam, em média, 75 % dos custos da adubação do milho comum, o que corresponde a cerca de 40 % dos custos totais de produção da cultura (MACHADO et al., 1998). Araújo, Ferreira e Cruz (2004) mostraram que a quantidade de N para atingir 90 % da maior produtividade de grãos estimada pela equação ( $11.269 \text{ kg ha}^{-1}$ ) foi de  $127 \text{ kg ha}^{-1}$  de N na monocultura, equivalente a  $282,2 \text{ kg ha}^{-1}$  de ureia (45 % de N).

O nitrogênio é o nutriente absorvido em maiores quantidades pela cultura do milho (ESCOSTEGUY et al., 1997; CERETTA et al., 2002) e o que tem maior influência na produtividade, com inúmeras funções relevantes nas suas atividades fisiológicas. Sua disponibilidade afeta diretamente a área foliar, a taxa de fotossíntese (LEMAIRE; GASTAL, 1997; AITA et al., 2001), o crescimento do sistema radicular (JENKINSON et al., 1985; RAO et al., 1992), o tamanho de espigas, o número e a massa de grãos (MELGAR et al., 1991) e a sanidade das plantas de milho (CASA; REIS; ZAMBOLIM, 2006; TOMAZELA et al., 2006).

A produtividade da maioria das culturas tem sido garantida pela utilização de quantidades substanciais de fertilizantes nitrogenados. Porém, o uso excessivo desses fertilizantes representa riscos de contaminação ambiental e aumento nos custos de produção (ROESCH et al., 2005). Dessa forma, uma alternativa para economia de fertilizante nitrogenado é a fixação biológica de nitrogênio.

Segundo Graham e Vance (2000) um dos objetivos para a agricultura sustentável é o aproveitamento eficiente do N atmosférico. No Brasil, a eficiência do processo da fixação biológica de nitrogênio (FBN) em plantas de leguminosas é facilmente visualizada na cultura da soja, onde até 94 % do N requerido pelas plantas pode ser fornecido pela FBN (HUNGRIA et al., 2006), colocando o país entre os maiores produtores mundiais desta leguminosa (DOTTO et al., 2010).

Por outro lado, o processo de FBN em espécies não leguminosas não é tão eficiente como verificado na cultura da soja, embora as bactérias que se associam com estas espécies conseguem fixar o N atmosférico e transferir parte deste elemento para as plantas, como os gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia* (DOTTO et al., 2010).

Cultivares adaptados a ambientes pobres em nitrogênio e capazes de se associar às bactérias diazotróficas podem representar uma alternativa ecologicamente sustentável e economicamente viável para a produção do milho em sistemas agrícolas com baixa utilização de insumos.

Diversas bactérias diazotróficas foram isoladas da cultura de milho e de outros cereais, destacando-se as espécies *Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, sendo as espécies mais estudadas pertencem ao gênero *Azospirillum* (REIS et al., 2000). Estudos relacionados com inoculação de *Azospirillum* em diferentes gramíneas, entre elas o milho, têm demonstrado que existe potencial para a produção de inoculantes com base nesse microrganismo (DOBBELAERE et al., 2001; HUNGRIA et al., 2010). A contribuição no desempenho agrônômico das plantas pode estar mais relacionada à produção de fitormônios do que a FBN (MENDONÇA; URQUIAGA; REIS, 2006).

A exploração do potencial do milho doce com as bactérias diazotróficas associado às doses de nitrogênio no sistema se torna necessária, visto que poucos estudos têm sido realizados sobre esta tecnologia em milhos especiais. Segundo Dotto et al. (2010), a busca por genótipos de milho que formem associações mais eficientes com tais bactérias, em condições de campo, é uma estratégia importante.

### **1.1. Hipóteses**

- i) O milho doce em associação com as bactérias diazotróficas (*Azospirillum brasilense*) responde conforme a disponibilidade de nitrogênio inorgânico presente no solo, e o número de células viáveis nas sementes são determinantes para o aproveitamento eficiente do nitrogênio atmosférico (N<sub>2</sub>);
- ii) A combinação das doses de nitrogênio aplicadas na ocasião da semeadura e em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura e a inoculação com as estirpes AbV5 e AbV6 de *Azospirillum brasilense*, podem favorecer a produtividade de espigas e a qualidade química dos grãos do milho doce.

### **1.2. Objetivo**

Avaliar as características fenotípicas do milho doce em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada na Safra de “Verão” e de “Outono-Inverno”, em Maringá, Noroeste do Paraná.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. MILHO DOCE

O milho doce, assim como o milho comum, pertence à família *Poaceae*, tribo *Maydeae*, do gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L., cuja genética é derivada do teosinte (*Zea mays parviglumys*). Estudos demonstram que este milho é originário da América, provavelmente das regiões do México e Guatemala (KWIATKOWSKI, 2007). Por sua vez, a botânica e a reprodução do milho doce são semelhantes às do milho comum (STORCK; LOVATO, 1991). O cultivo dessa cultura é realizado durante todo ano com suplementação de água por meio da irrigação e escalonamento da produção (TEIXEIRA et al., 2001; ALBUQUERQUE et al., 2008). A condução e os tratos culturais são os mesmos do milho comum.

O milho doce é classificado como milho especial e destina-se exclusivamente ao consumo humano. Esta hortaliça é consumida principalmente como milho verde, tanto na forma de espigas cozidas (“*in natura*” ou congelada) como grãos em conserva, processados pelas indústrias de produtos vegetais em conserva (NASCIMENTO et al., 1994; PEREIRA FILHO; CRUZ, 2002). Outra possibilidade de uso do milho doce é a produção de mini milho que se caracteriza antes da polinização dos estilos-estigmas das plantas. Após a colheita, os restos culturais podem ser usados para ensilagem como alimentação animal (SOUZA; MAIA; ANDRADE, 1990; TEIXEIRA et al., 2001).

A colheita de espigas de milho doce é realizada nas primeiras horas da manhã quando os grãos estão no estágio de grão leitoso (72-73 % de umidade). Após esta etapa, as espigas são levadas para uma área coberta e fria, onde serão manuseadas (MORETTI; HENZ, 2002). Os grãos maduros e secos ficam totalmente enrugados, devido ao seu baixo teor de amido na sua composição (PAIVA et al., 1992).

A atividade agroindustrial do milho doce é composta por dois setores de produção: agrícola e industrial. Sendo que, o setor agrícola fornece a matéria-prima (espigas) à industrial para ser processada, posteriormente. Os agricultores são cooperados destas empresas. Com isso, as empresas garantem a compra da produção, com um valor fixo por tonelada de espiga produzida. Os maiores preços são obtidos fora da época normalmente recomendada para o cultivo do milho comum (ALBUQUERQUE et al., 2008).

Dentre as características do milho doce que diferencia dos outros tipos de grãos de milho é o seu sabor doce natural, que é resultante da mutação genética que bloqueiam a conversão dos açúcares em amido durante o desenvolvimento do grão e os processos de maturação (GAMA et al., 1992). Além disso, esta hortaliça apresenta alto valor nutritivo e as características organolépticas como maciez, sabor e textura que determinam a qualidade do milho doce (KWIATKOWSKI; CLEMENTE, 2007). As características mais exigidas pelo consumidor são a coloração amarelo-alaranjada e o pericarpo mais fino, que contribui para a maciez dos grãos (LEMOS et al., 1999).

O milho doce é caracterizado por possuir pelo menos um dos oito genes mutantes que afetam a biossíntese de carboidratos no endosperma, como comentado anteriormente, sendo os principais: *shrunken-2 (sh2)*, localizado no cromossomo 3; *brittle (bt)*, no cromossomo 5; *sugary enhancer (se)*, *sugary (su)* e *Brittle-2 (bt2)*, todos no cromossomo 4. Existem, ainda, o *dull (du)*, no cromossomo 10, *waxy (wx)*, no cromossomo 9; e *amilose extender (ae)*, no cromossomo 5, podendo os genes atuarem de forma simples ou em combinações duplas ou triplas (SILVA, 1994). Entretanto, associadas a este gene, estão algumas características indesejáveis, como baixa produtividade e baixa resistência ao ataque de pragas e doenças por causa do maior teor de açúcares, quando comparado ao milho comum (TRACY, 2001, OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2006).

As cultivares do grupo superdoce são portadores do gene *bt2* ou do gene *sh2* na forma homocigota recessiva, e com isso apresentam aumento do teor de sacarose no endosperma dos grãos imaturos em aproximadamente 25 % (SILVA, 1994). Segundo Tracy (2001), no momento da colheita o grão contém de quatro a oito vezes a quantidade de açúcar de um grão de milho comum (3 a 5 %), devido a essa característica que o milho é classificado como superdoce. Erdal et al. (2011) avaliando quatro genótipos promissores de milho doce encontraram, em média, 6,5 % e 7,2 % de açúcares totais e proteína nos grãos.

De forma geral, as sementes de milho doce, grupo superdoce, possuem menor percentagem de germinação quando comparadas ao milho comum (WATERS JR.; BLANCHETTE, 1983). Dentre as características que conferem a baixa germinação está a menor quantidade de amido, a cristalização de açúcares no endosperma e a formação de espaços internos entre a camada de aleurona e o pericarpo das sementes de que ocorre durante a desidratação, fazendo com que estas apresentem aspecto enrugado, o que torna o pericarpo mais frágil e mais susceptível a danos físicos e a entrada de fitopatógenos (TOSELLO, 1987; DOUGLAS et al., 1993). Entretanto, não foi esclarecido se baixo vigor do milho doce,

especialmente do grupo superdoce, é devido à menor reserva de amido no endosperma ou se o embrião é por si mesmo geneticamente inferior e incapaz de apresentar maior vigor (MCDONALD et al., 1994). Sabe-se que o manuseio incorreto das sementes de milho doce é um dos fatores que leva à baixa percentagem de emergências das plântulas (WATERS JR.; BLANCHATTE, 1983).

Atualmente, os híbridos utilizados no Brasil contêm o gene *sh2*, principalmente por propiciar maior período de colheita. Isso se deve ao maior potencial osmótico conferido pela alta concentração de açúcar no grão, o que leva a menor perda de água (TRACY, 2001).

Com relação à certificação das sementes de cultivares híbridas de milho superdoce, tem-se levado à adoção de 55 % e 60 % de germinação mínima para sementes básicas e certificadas 1 (C1) e sementes de primeira geração (S1), respectivamente (MAPA, 2014).

Quanto às características químicas entre o milho doce e o comum, tem-se em torno de 3% de açúcar e entre 60 e 70 % de amido no milho comum, enquanto o milho doce tem em torno de 9 a 14 % de açúcar e 30 a 35 % de amido, e o superdoce tem em torno de 25 % de açúcar e 15 a 25 % de amido (SILVA; KARAN, 1994).

As indústrias preferem grãos de milho com alto teor de açúcares e baixo teor de amido, que também são desejáveis para o consumo “*in natura*”. Além dessas características, alguns atributos deverão ser observados: rendimento acima de 30 %, ou seja, para cada 100 kg de espigas empalhadas, o rendimento deverá ser de 30 kg de grãos enlatados; espigas acima de 20 cm, cilíndricas e de grãos profundos; longevidade de colheita (entre cinco e seis dias); espigas com mais de 16 fileiras de grãos, o que permite maior rendimento industrial; equilíbrio entre número de palhas e a perfeita proteção da espiga, ou seja, acima de 14 prejudica o rendimento industrial; grãos de coloração amarela - alaranjada e de pericarpo fino (45 a 50 micras); e com brix em torno de 20 % (PEREIRA FILHO; CRUZ, 2002). Características inerentes aos híbridos como comprimento e diâmetro da espiga e largura e profundidade dos grãos são importantes no desempenho industrial (BARBIERI et al., 2005). Por possuir baixo teor de amido nos grãos não é indicado para elaboração de alguns pratos típicos, como o curau e a pamonha (VALENTINI et al., 2002; PEREIRA FILHO; CRUZ; GAMA, 2003).

## **2.2. EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS**

O milho doce tem se revelado mais exigente em fertilidade em relação ao milho comum. Porém, é menos tolerante à acidez do solo, e a melhor faixa de pH indicada para essa

cultura situa-se entre 6,0 e 7,0 (FILGUEIRA et al., 1981; MALAVOLTA et al., 1997). Segundo Parentoni et al. (1990), essa exigência em fertilidade se deve ao fato do milho doce ter metabolismo curto e intenso, devendo os solos ácidos serem corrigidos antes da implantação da cultura.

Em trabalhos revisados por Borin et al. (2010), foram constatadas algumas diferenças nas quantidades de nutrientes absorvidas, possivelmente ocasionadas pelas condições diferenciadas de cultivares e técnicas de cultivo. Entretanto, não há trabalhos sobre absorção, extração e acúmulo de nutrientes no milho doce, cultivado em condições de campo.

De forma geral, no milho comum, segundo Coelho e França (1995), para produtividade de 7.870 kg ha<sup>-1</sup> é necessário, em média, 167, 33, 113, 27 e 25 kg ha<sup>-1</sup> de N, P, K, Ca e Mg, respectivamente. Quanto à exportação dos nutrientes, o fósforo é quase todo translocado para os grãos (77 a 86 %), seguindo-se o nitrogênio (70 a 77 %), o enxofre (60 %), o magnésio (47 a 69 %), o potássio (26 a 43 %) e o cálcio (3 a 7 %). Com base nestes dados, quando se incorpora os restos culturais do milho, devolve ao solo grande parte dos nutrientes, principalmente o cálcio e o potássio, contidos na palhada.

Os micronutrientes são exigidos em menores quantidades pelas plantas de milho. Para produtividade de 9.000 kg ha<sup>-1</sup> de grãos de milho comum, são extraídos, em média: 2.100 g de ferro, 340 g de manganês, 400 g de zinco, 170 g de boro, 110 g de cobre e, 9 g de molibdênio (COELHO, 2006). Porém, a deficiência de qualquer micronutriente vai interferir nos processos metabólicos da planta refletindo, portanto, no potencial produtivo da cultura.

O acúmulo de nutrientes na parte aérea de milho doce, contendo o gene *sh2* (cv. Tropical Plus), segundo trabalho de Borin et al. (2010), foi de 395,0, 75,0, 403,0, 43,7, 32,2 e 32,2 kg ha<sup>-1</sup> de N, P, K, Ca, Mg e S, respectivamente, para uma população de plantas de 62.500 ha<sup>-1</sup>. As quantidades de macronutrientes absorvidas pela parte vegetativa (planta e pendão) obedeceram à seguinte ordem: K>N>Mg>Ca>P>S. Porém, o acúmulo de macronutrientes na espiga é alterado em relação à planta. A ordem encontrada, neste trabalho, foi: N>K>P>Mg>S>Ca.

Independente do tipo de milho pode-se observar que a exigência em nutrientes é muito grande, principalmente de nitrogênio e potássio. Entretanto, o milho apresenta períodos diferentes de intensa absorção, com o primeiro ocorrendo durante a fase de desenvolvimento vegetativo, V<sub>12</sub> a V<sub>18</sub> (RITCHIE, HANWAY; BENSON, 1993), quando está definindo o número de grãos por espiga; e o segundo, durante a fase reprodutiva ou formação da espiga, quando o potencial produtivo é atingido (COELHO, 2006).

### 2.3. NITROGÊNIO

O nitrogênio é o nutriente exigido em maior quantidade pela maioria das plantas cultivadas, em muitos casos, é suprido de forma inadequada (AMADO; MIELNICZUK; AITA, 2002). Este elemento apresenta efeito considerável na produtividade de grãos, principalmente quando os demais nutrientes encontram-se disponíveis em quantidades adequadas e as condições climáticas são favoráveis (ERNANI et al., 1997). Na cultura do milho, a sua disponibilidade afeta diretamente a área foliar, a taxa fotossintética (LEMAIRE; GASTAL, 1997; AITA et al., 2001), o crescimento do sistema radicular (JENKINSON et al., 1985; RAO et al., 1992), tamanho de espigas, número e massa de grãos (MELGAR et al., 1991) e o grau de incidência de fitopatógenos na planta (CASA; REIS; ZAMBOLIM, 2006; TOMAZELA et al., 2006). Na maioria das vezes, o aumento da dose de nitrogênio no sistema, proporciona aumento no rendimento de grãos (BORTOLINI et al., 2001). Pesquisas com adubação nitrogenada em milho mostraram efeitos positivos sobre a produtividade, massa de mil sementes, índice de colheita, no número de espigas e sementes, índice de área foliar, e rendimento de biomassa (ULGER et al., 1995).

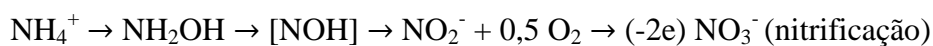
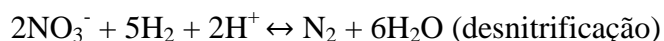
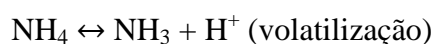
A absorção do N ocorre em todo ciclo do milho, porém, é pequena nos primeiros 30 dias. Nesta fase, as plantas absorvem menos do que  $0,5 \text{ kg ha}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (SCHRÖDER et al., 2000). No entanto, a ocorrência de deficiência de N nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura reduz o número de óvulos nos primórdios da espiga e o crescimento e desenvolvimento da planta, acarretando redução do potencial produtivo (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

Quanto ao sistema de manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho, devem visar à maximização dos lucros, reduzir a susceptibilidade das plantas a pragas, moléstias e melhorar a qualidade dos grãos, poupar energia e proteger o ambiente. O manejo ideal da adubação nitrogenada como sendo aquele que permite satisfazer a necessidade da cultura com o mínimo risco ambiental (STANFORD, 1973; KEENEY, 1982).

A alta mobilidade do nitrato no solo, principalmente em SPD, justifica a preocupação em relação ao manejo adequado da adubação nitrogenada em solos agrícolas. A lixiviação do nitrato é um fenômeno físico, favorecido pela baixa energia envolvida na sua adsorção às partículas do solo e também pela sua alta solubilidade em água (CERETTA, 1997). Este íon pode ser carregado pela água de percolação, resultando em perdas deste nutriente e contaminação do lençol freático e de cursos d'água.



A baixa eficiência das culturas no uso do N de fertilizantes se deve a quatro processos que atuam simultaneamente de forma direta: as perdas por percolação, volatilização de amônia e a desnitrificação (HILTON et al., 1994), escoamento superficial e a imobilização microbiana (AMADO; MIELNICZUK; FERNANDES, 2000; VARGAS; SELBACH; SÁ, 2005). No entanto, a utilização do fertilizante nitrogenado pelas plantas pode ser maximizada, localizando-se o fertilizante próximo ao sistema radicular, mais especificamente na região de maior absorção, aplicando-se o fertilizante no estágio fisiológico da cultura de maior demanda pelo nutriente, levando em consideração o regime hídrico a práticas de manejo. Os processos de perda do N no sistema agrícola estão apresentados em seguida.



De acordo com Sangoi et al. (2003a), o conhecimento das reações que interferem na dinâmica do N no solo é fundamental para o planejamento da adubação nitrogenada às plantas, específica para cada situação de lavoura.

### 2.3.1. Planta

O nitrogênio é considerado um elemento essencial para as plantas, fazendo parte das principais biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, proteínas, clorofila e inúmeras enzimas (MIFLIN; LEA, 1976; HARPER, 1994). Devido sua dinâmica no solo, a sua disponibilidade para as plantas, geralmente, é limitante, afetando significante o crescimento, desenvolvimento, formação dos órgãos florais e conseqüentemente, a produtividade. A definição da produtividade de grãos do milho, por exemplo, depende de quatro componentes essenciais, nos quais o N interfere significamente, sendo eles: número de espigas por planta (prolificidade), número de fileira por espiga, número de grãos por espiga e densidade de grãos.

Dependendo da espécie de planta, estágio fenológico, e tipo de órgão, o conteúdo de nitrogênio requerido para o ótimo desenvolvimento varia entre 2 e 5 % da massa seca da planta (MARSCHNER, 2011). Porém, quando o fornecimento de N está abaixo do nível ótimo, o crescimento é retardado, então o N é mobilizado nas folhas maduras (fonte) e retranslocado para as áreas em crescimento (drenos). O sintoma típico de deficiência de N na planta é a senescência das folhas mais velhas na forma de “V” invertido. Por outro lado, o fornecimento adequado de N não apenas contribui com o atraso da senescência, mas também

estimula o crescimento da planta (NOVOA; LOOMIS, 1981) e também nas mudanças morfológicas da mesma, particularmente se a disponibilidade do N é alta na rizosfera durante a fase vegetativa. Em consequência do suprimento do elemento às plantas, se tem um aumento da parte aérea, massa seca de raiz tanto em espécies perenes quanto anuais (LEVIN et al., 1989; OLSTHOORN et al., 1991). O aumento da relação parte aérea e raiz é desfavorável em termos de absorção de nutrientes e água do solo nos estádios mais avançados de desenvolvimento (MARSCHNER, 2011).

Nos cereais, como o milho, o aumento da alongação do colmo proporcionado pelo nitrogênio é evidente, aumentando a susceptibilidade ao acamamento (ESPINDULA, 2010). Esta mudança na morfologia é menos distinto com suprimento na forma de amônio do que na forma de nitrato (SOMMER; SIX, 1982), isso se deve provavelmente ao nitrogênio estar relacionado com as mudanças no balanço dos fitormônios.

O nitrogênio altera a composição da planta mais do que qualquer outro nutriente mineral. Por exemplo, a produção de massa seca de gramíneas é aumentada pela disponibilidade de N no sistema. Simultaneamente, o conteúdo total de N aumenta, porém, o conteúdo das duas principais formas de carboidratos, sacarose e amido, reduz drasticamente. Em contraste ao conteúdo de carboidratos, o conteúdo de lignina em gramíneas pode aumentar com o fornecimento de N (KALTOFEN, 1988), pois os aminoácidos fenilalanina e tirosina são precursores na biossíntese de compostos fenólicos, como a lignina.

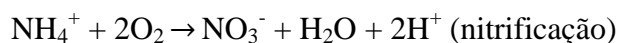
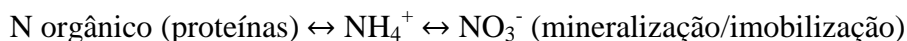
A mudança na composição da planta com aumento do fornecimento de N reflete numa competição de fotoassimilados entre várias rotas metabólicas. Esta competição é modulada pelos fatores internos e externos à planta. O suprimento correto de N favorece o aumento tanto o conteúdo de proteína (LUPATINI et al., 1998) quanto o crescimento das folhas correspondente ao índice de área foliar (LOOMIS; WILLIAMS, 1969). Contanto que o aumento no IAF está relacionado com um aumento na fotossíntese (SANGOI, 2000), o requerimento de esqueletos carbônicos para assimilação de N não suprime outras vias metabólicas relacionadas à síntese de carboidratos (açúcares, amido, celulose, etc.), armazenamento de lipídeos, ou óleos (MARSCHNER, 2011).

### **2.3.2. Dinâmica no solo**

O nitrogênio é o elemento com maiores interações com o ambiente, participando de inúmeras reações que ocorrem no solo, geralmente mediadas por microrganismos cuja atividade é influenciada por temperatura e umidade. Porém, pode ser perdido por várias rotas.

Este nutriente é considerado o mais importante para a produção vegetal, aumentando significativamente a produção, porém, quando usado em excesso, pode causar danos ao meio ambiente (CANTARELLA; MONTEZANO, 2010). Com isso, tem-se estudado para melhorar o uso do N no sistema agrícola, a fim de aumentar o potencial produtivo com mínimo impacto ambiental.

O grande estoque de N no solo é a matéria orgânica (M.O), que normalmente representa mais de 95% do N total, estando principalmente na forma de  $\alpha$ -amínica (24 a 37%), ácido nucléicos e amino açúcares (3 a 10 %), e produtos de condensação ou complexos com lignina (40 a 50 %), segundo Malavolta (2006). Entretanto, não está diretamente disponível para as plantas, precisando ser mineralizado pelas bactérias presentes no solo para converter em  $\text{NH}_4^+$  e/ou  $\text{NO}_3^-$ , posteriormente serem absorvidos pelas plantas. Abaixo segue a reação geral da mineralização/imobilização e da conversão do íon amônio em amônia.



O processo de mineralização da M.O é realizado por vários microrganismos, dependendo da aeração do solo, ou seja, em condições aeróbias e anaeróbias. Os fatores que interferem neste processo são pH, temperatura, umidade, entre outros. Por possuir carga negativa, o nitrato é lixiviado em solo com cargas predominantemente negativas (CERETTA; FRIES, 1997).

Em condições de anaerobiose, o  $\text{NO}_3^-$  funciona como receptor de elétrons na respiração de grande número de microrganismos do solo. Assim, o nitrato pode ser convertido pelo processo de desnitrificação em formas voláteis ( $\text{N}_2$  e  $\text{N}_2\text{O}$ ), que se perdem para a atmosfera (BOUWEESTER et al., 1985; CANTARELLA; MONTEZANO, 2010). Tais condições podem ser observadas em solos inundados e compactados.

Dependendo do pH do solo, o N amoniacal pode ocorrer na forma iônica ou como gás amônia. Sendo que, em solos alcalinos, predomina a forma gasosa, que pode se perder por volatilização ( $\text{NH}_3$ ). A forma de N aplicada no solo pode favorecer a perda para atmosfera, como por exemplo, fontes de N amídico (ureia), proporcionam a alcalinização da solução próxima ao grânulo durante a hidrólise, com formação de íons bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) e hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) pela ação da urease (VITTI et al., 2002).

A lixiviação do nitrato é considerada a principal perda do N disponível às plantas (ERREBHI et al., 1998). Ela é influenciada diretamente pelos fatores que determinam o fluxo de água no solo e pela concentração de  $\text{NO}_3^-$  no solo (WHITE, 1987). Alguns fatores podem

determinar a concentração deste íon na solução do solo, tais como, preparo do solo (AMADO; MIELNICZUK; FERNANDES, 2000), tipo de solo (SILVA et al., 1999) e forma de aplicação dos fertilizantes nitrogenados (SANTO et al., 2010).

Diante da dinâmica do N no solo, os estudos relacionados às doses, épocas de aplicação, e, além disso, associação das plantas de milho com as bactérias diazotróficas é decisivo para o manejo correto e consciente do N no sistema agrícola, principalmente para os milhos especiais, por estar em franca expansão no mercado nacional e mundial.

### **2.3.3. Adubação nitrogenada na cultura do milho**

No sistema agrícola, para obter altos rendimentos de grãos ou espigas, é necessária, dentre outros fatores, uma adequada disponibilidade de nutrientes às plantas. Na cultura do milho, o nitrogênio é o elemento exigido em maior quantidade, como dito no item 2.2, sendo o que mais frequentemente limita o rendimento de grãos (LEMAIRE; GASTAL, 1997). Neste sentido, Ros et al. (2003) demonstram a importância do manejo correto da adubação nitrogenada na cultura do milho e do trigo no sistema plantio direto.

O uso de uma escala baseada nas mudanças morfológicas da planta (aspecto visual da planta) e nos eventos fisiológicos que se sucedem em seu ciclo de vida oferece maior segurança e precisão nas ações de manejo, visto que o vegetal se adapta continuamente às variações de ambiente (FANCELLI, 2010).

A forma de aplicação do N pode influenciar o seu aproveitamento pelo milho, e a aplicação de ureia a lançar sobre a superfície do solo, pode resultar em grande perda por volatilização na forma de amônia (BOUWEESTER et al., 1985), além da queima foliar. Além disso, pode ocorrer maior imobilização do N mineral pelos microrganismos quimiorganotróficos para a decomposição dos resíduos vegetais presentes na superfície do solo. Desta forma, a lixiviação de N pode ser maior quando se incorpora o adubo nitrogenado devido à redução na possibilidade de perdas de N por volatilização, resultando em maiores concentrações deste nutriente na solução do solo (SANGOI et al., 2002). As perdas ocasionadas pela não incorporação da ureia, seja pela água da chuva, seja pela irrigação, pode atingir de 31 a 78% do total de N aplicado (LARA CABEZAS et al., 1997).

Na cultura do milho comum, de modo geral, a recomendação atual de adubação nitrogenada refere-se ao fornecimento de 30 kg ha<sup>-1</sup> a 50 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio por ocasião da semeadura (ou em pressemeadura). Conforme citado por Fancelli e Dourado Neto (2000), a taxa inicial de demanda por nitrogênio e a atividade das raízes aumentam com o aumento da

temperatura e, por esta razão, o melhor desempenho inicial de plantas de milho cultivadas em regiões e épocas quentes tem sido obtido com o uso de 40 kg ha<sup>-1</sup> a 50 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio na semeadura. Conforme a recomendação de Coelho (1991), doses acima de 120 kg ha<sup>-1</sup> em solos de textura média deve-se parcelar em duas vezes, ou seja, metade no estádio V<sub>3</sub> a V<sub>4</sub> e o restante no estádio V<sub>6</sub> a V<sub>7</sub>, e em solos de textura arenosa (teor de argila menor do que 15%) deve-se parcelar na proporção de 40% no estádio V<sub>3</sub> a V<sub>4</sub> e 60 % no estádio V<sub>6</sub> a V<sub>7</sub>.

Contudo, deve-se salientar que o uso de doses elevadas de nitrogênio (superiores a 60 kg ha<sup>-1</sup>), no sulco de semeadura, pode favorecer a salinização e/ou a alcalinização da rizosfera, em função da fonte empregada, afetando o funcionamento das raízes, a absorção de micronutrientes (mangânês e zinco) e os microrganismos do solo (FANCELLI, 2010).

No Brasil, a matéria orgânica vem sendo utilizada em alguns estados como principal parâmetro indicativo da liberação do nitrogênio pelo solo durante o ciclo da cultura, pois fornece uma estimativa indireta do solo de fornecer N. A utilização do teor da matéria orgânica, e mais recentemente, da cultura anterior como critérios indicativos da disponibilidade potencial de N do solo está fundamentada na premissa de que a matéria orgânica e a palhada da cultura anterior vão liberar o N através da mineralização em tempo hábil para ser absorvido pelas plantas (AMADO et al., 2002).

No entanto, a mineralização do N orgânico do solo e das culturas é afetada por diversos fatores, com destaque para os climáticos como temperatura e umidade, e os de solo como acidez (pH), textura e mineralogia (JENKINSON; AYANABA, 1977). Em regiões de clima úmido, a temperatura é o fator climático que mais influencia a taxa de mineralização do N orgânico, que varia na ordem de duas vezes para cada variação de 10°C (JENKINSON; AYANABA, 1977). Contudo, o uso desses parâmetros como complemento é benéfico para o manejo do N na cultura do milho (RAMBO et al., 2008).

O monitoramento dos indicadores de solo e de planta tem sido utilizado para avaliar a disponibilidade de N e auxiliar na decisão sobre a dose e a época de sua aplicação, para maximização do potencial produtivo, com maior eficiência de uso do N e o mínimo de impacto ambiental (RAMBO et al., 2008). Em geral, características de solo predizem com maior segurança a dose de N a ser aplicada, enquanto os de planta predizem a sua época de aplicação (SUNDERMAN et al., 1997; SCHRÖDER et al., 2000).

Portanto, a associação entre o monitoramento do nível de N na planta e da disponibilidade de N mineral do solo é muito importante para que se possa fazer a aplicação de N na época e quantidade adequadas. Porém, existem vários fatores que interferem na

disponibilidade do N liberado pelo solo, bem como na velocidade de absorção e assimilação do nutriente pela planta (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

No sistema plantio direto (SPD) ou semeadura direta (SSD) tem estudos a respeito sobre a adubação nitrogenada em pressemeadura do milho (BASSO; CERETTA, 2000), o qual consiste em aplicar parte do fertilizante nitrogenado após a dessecação da aveia-preta cultivada no inverno. Este método consiste em suprir a cultura no início do desenvolvimento e evitar redução do rendimento de grãos. A redução dos teores de N do solo na presença da palha de aveia-preta é devido a sua alta relação C/N, a qual provoca a imobilização do N do solo pela ação dos microrganismos durante a decomposição da palha. A razão desta imobilização se deve a população e atividade dos microrganismos decompositores ser influenciada pela quantidade de N do solo e esse aumento na disponibilidade de N pode favorecer a taxa de decomposição (WIETHÖLTER, 1996).

O aumento da relação C e N no solo, geralmente acarreta deficiência inicial de N quando a cultura do milho se realiza no sistema plantio direto, em sucessão às gramíneas (TEIXEIRA et al., 1994; DA ROS; AITA, 1996; ARGENTA; SILVA, 1999). Ao utilizar o carbono da palhada das gramíneas para fornecimento de energia, os microrganismos do solo imobilizam o N mineral, diminuindo sua disponibilidade para a cultura do milho (AITA et al., 2001). Com a continuidade do processo de decomposição dos resíduos das gramíneas, há diminuição da relação C/N, uma vez que o carbono está sendo perdido na forma de CO<sub>2</sub> e N, incorporado na massa microbiana (VICTORIA et al., 1992). A mineralização do N ocorrerá após a morte dos microrganismos, porém, talvez não atenda a demanda do milho durante o ciclo. Por outro lado, quando o milho é cultivado sobre a cobertura de espécies de leguminosas, o fornecimento de nitrogênio pela decomposição do resíduo vegetal é o principal benefício pelo fato destas espécies fixarem N durante o ciclo (AITA et al., 2001).

Souza et al. (2003) trabalhando com duas culturas de cobertura em Dourados (MS), sendo a aveia-preta e nabo forrageiro no inverno, em plantio direto irrigado na cultura do milho, verificaram que a sucessão nabo forrageiro e milho apresentou maiores produtividades em comparação com a gramínea, isso se deve provavelmente a indisponibilidade de N no início do ciclo da cultura, pela alta relação C/N da aveia-preta.

O N pode ser aplicado ao solo por diferentes métodos. Os mais usados são a aplicação a lanço na superfície do solo e a incorporação em linhas. Quando a fonte de N é ureia e não ocorrer chuva nos primeiros dias após a aplicação, a incorporação ao solo pode ser importante, pois pode ocorrer formação de amônia e sua liberação para a atmosfera

(PÖTTKER; WIETHÖLTER, 2004). Dentro deste contexto, Lara Cabezas et al. (2000) observaram maiores perdas de NH<sub>3</sub> derivado da ureia quando ela foi aplicada na superfície do solo em comparação com a sua incorporação ao solo na cultura do milho. Os autores salientam que pode haver redução no rendimento de grãos de milho devido à volatilização de N-NH<sub>3</sub>, na proporção de 10 kg ha<sup>-1</sup> de grãos para cada 1% de N volatilizado.

Outro fator importante a ser considerado visando melhorar a adubação nitrogenada é a busca de sincronia entre a época de aplicação e os estádios de maior necessidade de N pela planta, aumentando a eficiência do uso do N. Sistemas de manejo da adubação nitrogenada que são flexíveis e que podem ser modificados para compensar as condições climáticas têm potencial para serem mais eficientes (FANCELLI, 2010).

Embora haja recomendações para o milho comum, poucos estudos têm sido feitos a respeito da adubação nitrogenada para o milho doce (OKUMURA et al., 2014), e as doses e épocas de aplicação de N são embasadas de acordo com as pesquisas realizadas com milho comum.

#### **2.4. BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS: Gênero *Azospirillum***

Nos últimos anos foram identificadas novas bactérias que tem a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico: *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (BALDANI et al., 1996), *Herbaspirillum frisingense* (KIRCHHOF et al., 2001), *Gluconacetobacter johannae* e *Gluconacetobacter azotocaptans* (FUENTES-RAMÍREZ et al., 2001), *Azospirillum doebereinae* (ECKERT et al., 2001) e *Burkholderia tropica* (REIS et al., 2004). Os gêneros mais comuns de bactérias que tem a capacidade de criar sistema de associação são *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* e *Herbaspirillum*. *Azospirillum* e *Azotobacter* aparecem predominantemente nos trópicos e são raros em regiões temperadas, devido à temperatura ser mais favorável que está na faixa de 30°C, independente da origem das mesmas (JAIN et al., 1987; HARRIS et al., 1989). Em regiões temperadas, os gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter* são predominantes, pois a temperatura baixa é favorável para a sobrevivência (JAIN et al., 1987; JAGNOW; HÖFLICH; HOFFMANN, 1991).

Particularmente, o gênero *Azospirillum* está dividido em doze espécies principais: *A. amazonense* (MAGALHÃES et al., 1983), *A. halopraeferans* (REINHOLD et al., 1987), *A. largimobile* (DEKHIL et al., 1997), *A. oryzae* (XIE; YOKOTA, 2005), *A. irakense* (KHAMMAS et al., 1989), *A. doebereinae* (ECKERT et al., 2001), *A. brasilense* e *A.*

*lipoferum* (TARRAND; KRIEG; DÖBEREINER, 1978), *A. melinis* (PENG et al., 2006), *A. canadenses* (MEHNAZ et al., 2007), *A. picis* (LIN et al., 2009) e *A. thiophilum* (LAVRINKENKO et al., 2010). Dentre elas, as espécies mais estudadas para uso em inoculantes em gramíneas são *A. lipoferum* e *A. brasiliense* (HUNGRIA et al., 2010).

Além da divisão em espécies, as bactérias são subdivididas em estirpes, selecionadas conforme sua capacidade de fixar N, de produzir fitormônios e por sua compatibilidade com diferentes espécies e cultivares (ARAÚJO, 2008).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são caracterizadas por serem Gram-negativas de vida livre, com diâmetro de aproximadamente 1 µm, em forma de bastonete e usualmente uniflageladas, que possuem movimento vibratório (OKON; LABANDERA-GONZALES, 1994). As espécies *A. brasilense*, *A. irakense*, *A. largimobile* e *A. lipoferum* exibem flagelação mista formada por glicoproteínas (TARRAND; KRIEG; DÖBEREINER, 1978; HALL; KRIEG, 1998), em que um flagelo polar está presente em todas as condições de crescimento e vários flagelos laterais são adicionalmente sintetizados durante o crescimento em meio sólido (HALL; KRIEG, 1984). Enquanto que o *Az. halopraeferens* e *Az. amazonense* apenas exibe flagelo polar (MOENS et al., 1995).

A alta habilidade das células de se mover, aliada à quimiotaxia positiva para certos ácidos orgânicos, açúcares e aminoácidos (BARAK et al., 1983; REINHOLD et al., 1985; ZHULIN et al., 1988), provavelmente, conferem ao *Azospirillum* uma vantagem sobre outros microrganismos na rizosfera, aproveitando dessa forma melhor os nutrientes. Essas bactérias se desenvolvem melhor em pH 5,5 a 7,0 (DÖBEREINER et al., 1976), cuja absorção da maioria dos nutrientes pela planta é aumentada nessa faixa de pH.

Os metabolismos de carbono e nitrogênio provêm dos ácidos orgânicos (malato, succinato e piruvato), glicose e frutose. Nitrato, nitrito e aminoácidos, além do nitrogênio molecular, podem servir como fonte de nitrogênio (DÖBEREINER, 1992).

As bactérias desse gênero são conhecidas pela capacidade de produzir fitormônios, principalmente, auxina, citocinina e giberelina, colaborando, dessa forma, no aumento de produtividade das plantas (SPAEPEN; VANDERLEYDEN; OKON, 2009).

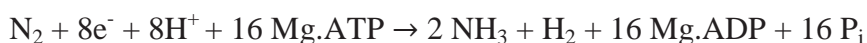
Os estudos mostram que existem pelo menos três vias biossintéticas para produção de AIA em *Azospirillum*: duas dependentes de triptofano, como a via indole-3-acetamida (IAM) e indole-3-piruvato (IpyA), e uma outra independente de triptofano (DOBBELAERE et al., 1999; LAMBRECHT et al., 2000). Recentemente foi observado que a enzima indole-3-piruvato decarboxilase, codificada pelo gene *ipdC*, é comum às duas vias IpyA, e à via que



independe de triptofano, cujo precursor ainda é desconhecido, sendo possível que ambas tenham início em um intermediário comum, o IpyA (LAMBRECHT et al., 2000).

Novos resultados baseados na expressão de genes mostraram a regulação do gene *ipdC* por AIA em *A. brasilense* (VANDE BROEK et al., 1999) e observou-se que o promotor possui um elemento responsivo a auxina (AuxRE) similar ao promotor de genes que induzem auxinas em plantas (LAMBRECHT et al., 2000). Há evidências de que os microrganismos podem selecionar uma via metabólica diferenciada dependendo do meio ambiente (PATTEN; GLICK, 1996). Fato similar foi observado em espécies de *Rhizobium* que só utilizavam a via do indole-3-acetamida quando associados ao hospedeiro (COSTACURTA; VANDERLEYDEN, 1995) e a via do ácido 3-indole-piruvico era utilizada em vida livre (ERNSTSEN et al., 1987).

A fixação biológica de nitrogênio, semelhante à fixação industrial do nitrogênio, produz duas moléculas de NH<sub>3</sub> a partir do N<sub>2</sub>, e o complexo de enzima nitrogenase (dinitrogenase e dinitrogenase redutase) catalisa essa reação. Em contrapartida as plantas inoculadas com *Azospirillum* spp., por exemplo, fornecem preferencialmente ácidos orgânicos como fonte de carbono (DAY; DÖBEREINER, 1976; BALDANI; BALDANI, 2005), porém, o uso de sacarose é uma alternativa observada em *A. amazonense* (MAGALHÃES et al., 1983). Este processo é muito exigente em termos energéticos e, sabe-se que é estritamente regulada em nível de transcrição (HUERGO et al., 2006). A reação geral da FBN é:



O *Azospirillum* pode colonizar as raízes tanto externamente (rizosfera) quanto internamente. Em colonização externa, as bactérias formam agregados pequenos principalmente, embora muitas células individuais podem também estar dispersos na superfície da raiz (BERG et al., 1979; UMALI-GARCIA et al., 1981; BASHAN et al., 1986; MURTY; LADHA, 1987). Em colonização interna, as células de *Azospirillum* podem colonizar penetrando nos espaços intercelulares da raiz (PATRIQUIN; DÖBEREINER, 1978; UMALI-GARCIA et al., 1981; LEVANONY et al., 1989). O processo de colonização das raízes inicia-se com a fase de adsorção, em seguida pela ancoragem, na qual formam agregadores de bactérias que são firmemente e irreversivelmente ancorados nas células superficiais da raiz. Estudos sugerem que o processo de ancoragem depende da produção extracelular de polissacarídeos pelas bactérias (MICHIELS; CROES; VANDERLEYDEN, 1991; DEL GALLO, FENDRIK, 1994; DE TROCH; VANDERLEYDEN, 1996; SKVORTSOV; IGNATOV, 1998).

Apesar de o *Azospirillum* colonizar tanto internamente quanto externamente, o mesmo tende preferencialmente colonizar a área de alongamento da raiz (BASHAN et al. 1986; OKON; KAPULNIK, 1986). Nos cereais, a colonização é principalmente na superfície e poucas bactérias são fixadas aos pêlos radiculares (OKON; KAPULNIK, 1986; BASHAN; LEVANONY, 1989).

Os efeitos mais marcantes da inoculação de *Azospirillum* nas plantas são as várias alterações morfológicas no sistema radicular. Estas mudanças estão diretamente relacionadas com as concentrações de inoculo, ou seja, níveis elevados têm efeitos inibitórios, enquanto que níveis baixos não tem efeito (BASHAN; LEVANONY, 1990).

Mudanças na parte aérea das plantas também foram observadas quando foram colonizadas por *Azospirillum* spp., tais como: aumento na massa seca das plantas, quantidade de nitrogênio na parte aérea e grãos, número total de perfilhos, perfilhos férteis, tempo de floração, aumento no número de espigas e grãos por espiga, massa de grãos, maior altura de plantas, tamanho das folhas e maior taxa de germinação (BALDANI; DÖBEREINER, 1980; ALBRECHT et al., 1981; BASHAN, 1986; BASHAN; HERNANDEZ, 2002). Além disso, o efeito da inoculação no desenvolvimento, crescimento e volume de raízes foram observados (TIEN; GASKINS; HUBBELL, 1979). Mudanças visíveis não foram verificadas no crescimento das plantas de cereais a campo (BASHAN et al., 1989).

A inoculação em plantas com *Azospirillum* pode afetar significativamente vários parâmetros relacionados ao crescimento das plantas, os quais podem ou não afetar o rendimento da cultura (BASHAN; LEVANONY, 1990).

Trabalho realizado por Ferreira et al. (2013) na cultura do milho comum com inoculação de *A. brasilense* combinada com aplicação de nutrientes (macronutrientes e micronutrientes) sob condições de campo e casa de vegetação, observaram que a inoculação aumentou em 29% a produtividade de grãos comparado ao tratamento que recebeu apenas o fertilizante nitrogenado.

O efeito da inoculação de *Azospirillum* em relação ao rendimento varia geralmente entre 10 e 30 % sobre a testemunha (KAPULNIK et al., 1981; RAO et al., 1983; WATANABE; LI, 1984). Incremento moderado (até 20 %) tem sido considerado como valor comercial na agricultura moderna, se obtido de forma consistente (BASHAN; LEVANONY, 1990). Neste contexto, Hungria et al. (2010) trabalhando com a cultura do milho com estirpes AbV5, AbV6 e AbV7 de *A. brasilense*, obtiveram incremento em produtividade de milho comum variando de 16 a 30% em comparação a testemunha (sem inoculação).

Duas variáveis básicas que contribuem para a complexidade das plantas cultivadas a reposta ao rendimento, que frequentemente mostram diferentes respostas a inoculação (MILLET et al., 1986), tais como: cultivares de plantas, muitas vezes mostram respostas diferenciadas, e o nível de fertilização de N. Em contrapartida, trabalho realizado por Mendonça et al. (2006) com nove genótipos de milho comum e inoculados com uma mistura de bactérias diazotróficas, incluindo *A. amazonense* e *A. lipoferum*, verificaram que cada um diferiu em rendimento de grãos, produção de biomassa e no acúmulo de N, porém não foi observada a contribuição da FBN. O nitrogênio aplicado pode influenciar no número de bactérias na rizosfera, como mostrado por Millet e Feldman (1986) e Bashan et al. (1989).

Na cultura do milho, a maioria dos trabalhos foi conduzida com a inoculação de *A. brasilense* e *A. lipoferum*, mostrando variáveis respostas quanto ao aumento da FBN. Estudos recentes mostraram a possibilidade de aumento da produtividade em 30 %, tendo havido grande variabilidade na capacidade de obter N por meio da FBN (HUNGRIA et al., 2010). Esta contribuição é maior quando se faz adubação nitrogenada. Neste sentido, Braccini et al. (2012) trabalhando com três doses de N (0, 50% e 100% da dose recomendada), uma única dose de inoculante (200 mL ha<sup>-1</sup>) contendo *A. brasilense* e biorregulador de crescimento (Stimulate) na cultura do milho comum, verificaram que a inoculação pode causar incremento na altura de plantas, massa seca da parte aérea e rendimento de grãos comparado a testemunha. Respostas positivas também foram obtidas por Cavallet et al. (2000) quando inocularam as sementes de milho com *Azospirillum* spp., com aumento médio de 17% em produtividade e 6% em comprimento de espigas, porém, não observaram efeito significativo sobre a altura de plantas e nem sobre o número de grãos por fileira.

Santa et al. (2004) trabalhando com linhagem de milho (Cargill 909), diferentes níveis de adubação nitrogenada e duas estirpes de *Azospirillum* (RAM-5 e RAM-7) em Guarapuava, Paraná, verificaram que a inoculação promoveu uma redução 40% da quantidade de fertilizante nitrogenado recomendada para o experimento.

Roesch et al. (2005) avaliando 32 cultivares de milho com diferentes doses de N aplicados ao solo, com objetivo de estudar a capacidade de absorção deste elemento na presença das bactérias diazotróficas, concluíram que cada genótipo tem capacidade diferenciada de assimilar o nitrogênio juntamente com esses microrganismos e a seleção de cultivares eficientes é importante para cultivo em solos com baixa fertilidade.

O rendimento de uma cultura por *Azospirillum* spp. explica-se, em parte, pelas varias mudanças na raiz proporcionadas por essas bactérias, incluindo aumento no comprimento da

raiz, particularmente da zona de alongamento, aumento em número e comprimento das raízes laterais, o que aumenta o volume de raízes, e aumento da massa seca das mesmas (UMALI-GARCIA et al., 1980), aumento no número, densidade, e no início do aparecimento de pêlos radiculares, aumento da área superficial da raiz (FALLIK et al., 1988; OKON; LABANDERA-GOZALES, 1994), a divisão celular no meristema da raiz (LEVANONY; BASHAN, 1989), as mudanças nos arranjos das células do córtex (LIN et al., 1983; KAPULNIK et al., 1985), e estimulação de exsudação (LEE; GASKINS, 1982; HEULIN et al., 1987).

Estudos mostram que as associações com as bactérias diazotróficas sofrem influências das condições ambientais e geográficas, demonstrando, dessa forma, que os estudos devem ser direcionados a nível regional.

Okon e Kapulnik (1986) salientam que mais trabalhos com *Azospirillum* precisam ser realizados para confirmar a contribuição da FBN na promoção do desenvolvimento das plantas.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

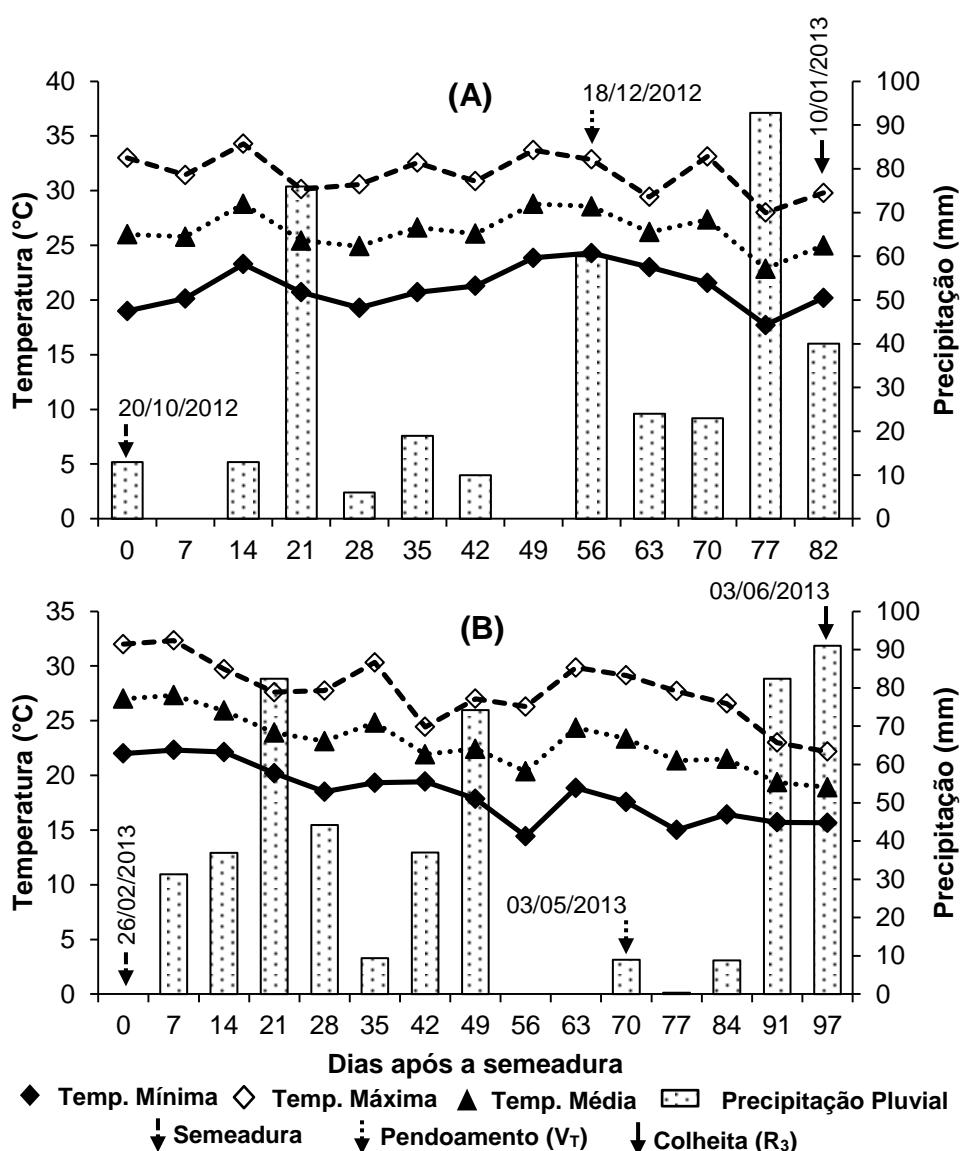
#### **3.1. LOCALIZAÇÃO**

Os experimentos foram realizados na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente a Universidade Estadual de Maringá (UEM), localizada no Distrito de Iguatemi, município de Maringá, Noroeste do Paraná, latitude 23°20'48" sul e longitude 52°04'17" oeste, com altitude aproximada de 550 m.

#### **3.2. CLIMA**

O clima da região onde foram instalados os experimentos, segundo Köppen-Geiger (1928), é classificado como Cfa, ou seja, clima subtropical; temperatura média no mês mais frio inferior a 18 °C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente acima de 22 °C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, porém, sem estação seca definida (IAPAR, 1994).

Os dados climáticos (precipitação pluvial e temperatura) coletados no período em que foram conduzidos os experimentos de “Verão” e “Outono-Inverno”, nos anos agrícolas 2012 e 2013, encontram-se na Figura 1.



**Figura 1.** Precipitação pluvial (mm), temperatura máxima (°C), mínima (°C) e média (°C) observadas durante a condução dos experimentos da Safra de “Verão” de 2012/2013 (A) e de “Outono-Inverno” de 2013 (B), em Maringá, Noroeste do Paraná. Fonte: Laboratório de Análise de Sementes da FEI-UEM.

### 3.3. SOLO

O solo é classificado como NITOSSOLO VERMELHO Distroférico, textura argilosa (EMBRAPA, 2013), constituído por 520 g kg<sup>-1</sup> de argila, 140 g kg<sup>-1</sup> de silte e 340 g kg<sup>-1</sup> de areia. Os resultados da análise química do material de solo referente à Safra de “Verão” de 2012/2013 e de “Outono-Inverno” de 2013 estão apresentados na Tabela 1. As coletas foram realizadas antes da implantação de cada experimento.

**Tabela 1.** Resultados da análise química do material de solo da área experimental referentes à Safra de “Verão” de 2012/2013 e de “Outono-Inverno” de 2013, em duas profundidades de coleta (0-20 e 20-40 cm)<sup>1</sup>

Safra de “Verão”								
Prof.	pH	H <sup>+</sup> + Al <sup>3+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	V	P	C
cm	CaCl <sub>2</sub>	.....	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> .....			%	mg dm <sup>-3</sup>	g kg <sup>-1</sup>
0-20	5,1	3,97	0,29	4,05	1,50	59,53	22,4	13,81
20-40	5,0	3,97	0,22	4,02	1,38	58,60	17,5	12,28
Safra de “Outono-Inverno”								
Prof.	pH	H <sup>+</sup> + Al <sup>3+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	V	P	C
cm	CaCl <sub>2</sub>	.....	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> .....			%	mg dm <sup>-3</sup>	g kg <sup>-1</sup>
0-20	5,1	3,68	0,43	3,93	1,70	62,22	8,2	12,44
20-40	5,2	3,42	0,25	3,60	1,49	60,96	5,4	10,07

Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup> - extraídos com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>; P, K<sup>+</sup> - extraídos com Mehlich 1; H<sup>+</sup> + Al<sup>3+</sup> - método SMP; C - método Walkley & Black.

<sup>1</sup> Análise realizada pelo Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas do Departamento de Agronomia da UEM.

### 3.4. PERÍODO DE REALIZAÇÃO

A instalação dos experimentos foi realizada nos anos agrícolas de 2012 e de 2013, no “Verão” (2012/2013) e “Outono-Inverno” (2013), na primeira e segunda Safra, respectivamente. A semeadura da Safra de “Verão” foi realizada no dia 20 de outubro de 2012. Na Safra de “Outono-Inverno” do ano agrícola de 2012 foram semeadas sementes de aveia-preta (*Avena strigosa* L.) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) a lanço para produção de biomassa para a cultura principal (milho doce), no mês de maio. A semeadura da Safra de “Outono-Inverno” de 2013, por sua vez, foi realizada no dia 26 de fevereiro.

As colheitas aconteceram nos dias 10 de janeiro e 03 de junho de 2013 da Safra de “Verão” e “Outono-Inverno”, respectivamente.

### 3.5. TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi de blocos completos com tratamentos casualizados, em esquema de arranjo de tratamentos fatorial 5 x 2 x 2, com quatro repetições, em que os tratamentos foram compostos por cinco níveis de inoculação a base de *Azospirillum brasilense* (0, 50, 100, 150 e 200 mL ha<sup>-1</sup>), dois níveis de adubação nitrogenada na semeadura (0 e 30 kg ha<sup>-1</sup>) e em cobertura (0 e 110 kg ha<sup>-1</sup>) no estágio V<sub>4</sub> (quatro folhas totalmente expandidas) e, um híbrido simples modificado de milho doce (RB 6324) pertencente à

Syngenta Seeds, totalizando 80 unidades experimentais. As características inerentes ao híbrido de milho doce utilizado nas duas safras agrícolas estão apresentadas na Tabela 2.

Cada tratamento corresponde a combinação da dose de inoculante com a dose de N da semeadura (0 e 30 kg ha<sup>-1</sup>) e de cobertura (0 e 110 kg ha<sup>-1</sup>) para o híbrido avaliado, totalizando vinte tratamentos.

**Tabela 2.** Principais características agrônômicas do híbrido de milho doce RB 6324<sup>1</sup>

<b>Características gerais</b>	
Ciclo (dias)	86-106 (precoce)
Híbrido	Simplex modificado
Grupo	Superdoce ( <i>Sh</i> <sub>2</sub> )
Altura média (m)	2,45
Consumo	<i>In natura</i>
Coloração dos grãos	Amarelo-claro
Comprimento médio da espiga (cm)	18,5
Diâmetro médio da espiga (cm)	5,6
Número médio de fileiras por espiga	16-18
Umidade de colheita (%)	74-78
Produtividade de grãos (Mg ha <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	7,5
Produtividade de espigas (Mg ha <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	20,0
<b>Doenças foliares</b>	
Ferrugem comum ( <i>Puccinia sorghi</i> )	Pouco tolerante
Ferrugem tropical ( <i>Physopella zae</i> )	Medianamente tolerante
Helminstosporiose ( <i>Exserohilum turcicum</i> )	Medianamente tolerante
<b>Doença da espiga</b>	
Podridão-da-espiga	Medianamente tolerante

<sup>1</sup>Fonte: Syngenta Seeds Ltda (Não publicado).

<sup>2</sup>Potencial produtivo.

### 3.6. IMPLANTAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

#### 3.6.1. Características das unidades experimentais

A unidade experimental foi constituída por cinco linhas de plantas com comprimento de 6,0 m, espaçadas em 0,90 m entre fileiras (CORRÊA, 1992). As avaliações foram realizadas nas três linhas centrais, excluindo 0,50 m de cada extremidade, totalizando 13,50 m<sup>2</sup> de área útil.

### **3.6.2. Preparo da área experimental**

Antes da implantação do milho doce da primeira safra de 2012, foi realizada a dessecação da aveia-preta e nabo forrageiro no pleno florescimento, com uso do herbicida Glyphosate (480 g L<sup>-1</sup> do i.a) na dose de 2,5 L ha<sup>-1</sup> (ANDREI, 2013). Entretanto, no ano de 2012, foi realizado o revolvimento do solo com arado descompactador antes da semeadura da aveia-preta e nabo forrageiro, e posteriormente, foi realizada a gradagem para a incorporação das sementes.

De acordo com o resultado da análise do material de solo (2012), foi necessária a aplicação de calcário calcítico na área experimental na dose de 1.550 kg ha<sup>-1</sup> (PRNT de 80 %) antes da implantação da cultura da aveia-preta e do nabo forrageiro (2012), a fim de elevar a saturação por bases para 70 %, conforme a recomendação de Oliveira (2003) para o estado do Paraná.

### **3.6.3. Inoculação das sementes de milho doce**

A inoculação das sementes de milho doce foi realizada no mesmo dia da semeadura, com o emprego do inoculante líquido (Hungria et al., 2010) contendo *Azospirillum brasilense* (estirpes AbV5 e AbV6) nas doses de 0, 50, 100, 150 e 200 mL ha<sup>-1</sup> após o tratamento com o inseticida Imidacloprid + Tiodicarb (Cropstar), cuja concentração mínima do produto comercial (Masterfix<sup>®</sup> L Gramíneas) para cada mL ou g é de 2x10<sup>8</sup> células viáveis, segundo a empresa fabricante (Stoller do Brasil Ltda.) (Tabela 1A). Com o intuito de melhorar a aderência do inoculante às sementes foi utilizada calda açucarada com 10 % de concentração em 5,0 mL de água kg<sup>-1</sup> de sementes tratadas. Após este procedimento, o inoculante líquido foi aplicado de forma que todas as sementes de cada lote ficassem totalmente revestidas (BRACCINI et al., 2012). Como o volume de sementes de cada tratamento era baixo, foi necessária a utilização de pipetas graduadas para ajustar as referidas doses de inoculante.

### **3.6.4. Semeadura e população de plantas**

A semeadura realizou-se manualmente (matraca) em sistema plantio direto (SPD). Na ocasião foram semeadas três sementes por cova, com distância de 0,20 m entre plantas (CORRÊA, 1992).



Após a emergência das plantas, no estágio V<sub>2</sub> (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993), foi realizado o desbaste de plantas menos vigorosa para atingir a população desejada de 55.500 plantas ha<sup>-1</sup> ou 5,0 plantas m<sup>-1</sup> linear.

### **3.6.5. Adubação de semeadura**

Conforme o resultado da análise do material de solo foi realizada a adubação no sulco de semeadura de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O nas doses de 50 e 40 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, por meio da semeadora de plantio direto, numa profundidade de 10 cm, segundo a recomendação de Alves et al. (1999) para o milho comum. A dose de N na semeadura foi de 30 kg ha<sup>-1</sup> nos tratamentos que receberam este nutriente.

### **3.6.6. Adubação de cobertura**

A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada de forma manual a lanço, nas doses de 0 e 110 kg ha<sup>-1</sup> de N (OKUMURA et al., 2014), utilizando uréia (CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) como fonte de N. O fertilizante foi aplicado aproximadamente a 0,08 m das fileiras de plantas, quando no mínimo 50 % das plantas estiveram no estágio V<sub>4</sub>, conforme Ritchie, Hanway e Benson (1993). Após aplicação foi fornecido água por meio da irrigação, a fim de minimizar as perdas de N por volatilização (BOUWEESTER et al., 1985).

### **3.6.7. Tratos culturais e fitossanitários**

O manejo da cultura foi realizado conforme as recomendações para o milho comum. Primeiramente, na Safra de “Verão” foi realizada a dessecação da aveia-preta e nabo forrageiro no pleno florescimento com o uso de Glyphosate, como dito anteriormente no item 3.6.2. Em pós-emergência da cultura, foi aplicado em conjunto para controle de plantas daninhas de folha larga e estreita a Atrazina (500 g L<sup>-1</sup> de i.a) na dose de 3,0 L ha<sup>-1</sup>, o Tembotriona (Soberan) na dose de 240 mL ha<sup>-1</sup> e adjuvante na dose de 1,0 L ha<sup>-1</sup> (ANDREI, 2013) e eventualmente, a capina manual, quando foi necessária.

Por sua vez, na Safra de “Outono-Inverno” foi aplicado em pré-emergência da cultura o herbicida Glyphosate na dose de 2,5 L ha<sup>-1</sup> aproximadamente 20 dias antes da semeadura. Em pós-emergência foram utilizados os mesmos herbicidas da Safra de “Verão”.

Os insetos-praga iniciais, incluindo insetos de solo e pentatomídeos (percevejos), foram controlados com Imidacloropid + tiodicarb (Cropstar) por meio do tratamento de sementes, na dose de 0,30 L 60.000 sementes<sup>-1</sup>. Referindo-se ao controle da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), os produtos utilizados foram Metilcarbamato de Oxima (Lannate BR) e Lufenuron (Match 50 EC), nas doses de 0,50 e 0,30 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, quando no mínimo 20 % das plantas de cada unidade experimental apresentaram folhas raspadas na região do cartucho (BIANCO, 1980), representando a nota quatro, segundo a escala de Davis et al. (1992).

### **3.6.8. Irrigação**

Durante a condução dos experimentos foi fornecido água por meio da irrigação por aspersão, priorizando nas épocas de ocorrência de estiagens, principalmente nos períodos críticos (florescimento até início da formação dos grãos) da planta de milho doce (BERGAMASCHI et al., 2004).

### **3.6.9. Colheita**

A colheita das espigas foi realizada manualmente nas primeiras horas da manhã quando as plantas de milho doce de cada unidade experimental estiveram no estágio de grão leitoso (R<sub>3</sub>) (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993), em torno de 72 % de umidade (PEREIRA FILHO et al., 2003). A identificação do estágio R<sub>3</sub> foi feita através da observação dos grãos nas espigas, e também, de modo empírico, quando os estilos-estigmas (“cabelo”) apresentaram coloração castanha clara.

## **3.7. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DE NITROGÊNIO DA PLANTA**

### **3.7.1. Teor de nitrogênio na folha (TNF)**

No estágio R<sub>1</sub> (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993) foram coletadas 10 folhas índices em cada unidade experimental que se encontravam logo abaixo e oposta à espiga principal (MALAVOLTA, 2006). Em seguida, foram condicionadas em sacos de papel e posteriormente levadas ao Núcleo de Pesquisa Aplicada à Agricultura (NUPAGRI) da

Universidade Estadual de Maringá para secagem até o peso constante, a uma temperatura aproximada de 60 °C. Posteriormente, foi realizada a moagem das folhas secas em moinho tipo Willey para análise do N total, conforme a metodologia adotada por Malavolta et al. (1997).

### **3.8. AVALIAÇÕES FITOTÉCNICAS DA PARTE AÉREA DAS PLANTAS**

As avaliações foram realizadas quando no mínimo 50 % das plantas de cada unidade experimental estiveram no estágio  $V_T$  (pendoamento). As características analisadas foram: altura de plantas e índice de área foliar.

#### **3.8.1. Altura de plantas (AP)**

A AP (m) foi determinada medindo-se da superfície do solo até a extremidade do pendão, em dez plantas sorteadas ao acaso em cada unidade experimental (CAVALLET et al., 2000; DEMÉTRIO et al., 2008).

#### **3.8.2. Índice de área foliar (IAF)**

A área foliar (AF) foi obtida pela expressão  $AF = C \times L \times 0,75$ , também utilizada por Sangoi, Schmitt e Zanin (2007), em que C e L representam o comprimento (m) e a largura (m), respectivamente, de todas as folhas com mais de 50% de área verde, de cinco plantas por unidade experimental. Por sua vez, o índice de área foliar (IAF) foi estimado pela relação entre a área foliar e o espaço ocupado pelas plantas, de acordo com a expressão  $IAF = AF / (e_1 \times e_2)$ , em que,  $e_1$  e  $e_2$  referem-se ao espaçamento entre plantas na linha de semeadura (m) e entre as linhas de semeadura (m), respectivamente.

### **3.9. AVALIAÇÕES FITOTÉCNICAS DE COMPONENTES DE PRODUÇÃO**

#### **3.9.1. Número de grãos por fileira (NGF)**

O NGF foi determinado em dez espigas escolhidas aleatoriamente em cada unidade experimental (DEMÉTRIO et al., 2008), mediante contagem simples dos grãos presentes em uma fileira de cada espiga.

### **3.9.2. Número de fileiras de grãos por espiga (NFE)**

O NFE foi determinado mediante a contagem simples em cada espiga, utilizando as dez espigas do item 3.9.1 (DEMÉTRIO et al., 2008).

### **3.9.3. Produtividade de espigas despalhadas (PED)**

A quantificação da PED foi feita mediante a pesagem de todas as espigas (kg parcela<sup>1</sup>) que foram colhidas da área útil (13,50 m<sup>2</sup>) de cada unidade experimental que, posteriormente, extrapolada para Mg ha<sup>-1</sup> (BARBIERI et al., 2005).

### **3.9.4. Produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD)**

A PECD foi determinada mediante a separação de espigas maiores que 15 cm de comprimento e com diâmetro maior que 3 cm; isentas de ataques de insetos-praga e de doenças são padrões para serem consideradas comerciais (ALBUQUERQUE et al., 2008; PEREIRA FILHO, 2003), utilizando as mesmas espigas do item 3.9.3, e posteriormente, foram pesadas (kg parcela<sup>-1</sup>) e extrapolada para Mg ha<sup>-1</sup> (BARBIERI et al., 2005).

## **3.10. PÓS-COLHEITA DAS ESPIGAS**

Após as espigas serem despalhadas e pesadas, foram escolhidas aleatoriamente cinco espigas de cada tratamento, que posteriormente, foram submetidas ao processo de branqueamento em água, com temperatura aproximada de 100 °C, durante 5 minutos, em seguida, resfriadas em água com temperatura aproximada de 20 °C, durante 10 minutos. Após este procedimento, foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas para o NUPAGRI, onde foram congeladas a uma temperatura de -18 °C (KWIATKOWSKI et al., 2011).

Em outra etapa, as espigas foram descongeladas e os grãos retirados com auxílio de uma faca do tipo inox. Em seguida, os grãos foram secados em estufa com circulação forçada a uma temperatura de 60 °C até peso constante. Após retirar os grãos da estufa, os mesmos foram triturados em moinho de facas, obtendo uma farinha integral de granulação de 30 mesh.

## **3.11. AVALIAÇÕES DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS GRÃOS**

Os teores de açúcares totais foram determinados utilizando-se o método de Lane-Eynon, segundo os métodos físico-químicos para análises de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

A avaliação dos teores de proteína das amostras foi realizada de acordo com o método de Kjeldahl (VOGEL, 1992), avaliando-se a porcentagem de nitrogênio total na amostra, segundo os métodos físico-químicos para análises de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

### 3.12.1. Teor de Proteína (TP)

Inicialmente foi pesado 0,2 g de cada amostra seca em estufa e sequencialmente foi colocada em tubo de digestão previamente identificado. Em cada um foi adicionado 2 g da mistura catalítica (1 g de selênio em pó, 10 g de sulfato de cobre e 100 g de sulfato de sódio) e 5 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente, estes tubos foram colocados em um bloco digestor, onde foram aquecidos de forma gradual até 350 °C. Após este procedimento, em cada tubo foi adicionado 20 mL de água destilada e 20 mL de hidróxido de sódio (NaOH) a 50 %. Em cada erlenmeyer foi adicionado 50 mL de ácido bórico a 4% e mais três gotas da solução indicadora (0,132 g de vermelho de metila, 70 mL de álcool etílico e 0,066 g de verde de bromocresol). Esta solução foi levada até o destilador de Kjeldahl semiautomático para receber toda a amônia da amostra. Por fim, foi titulado com ácido clorídrico a 0,1 N até a viragem do indicador misto (verde para roxa) e a quantidade gasta para titular foi anotada para o cálculo da porcentagem de proteína presente nos grãos. A fórmula utilizada para o cálculo foi a seguinte:

$$\text{g nitrogênio} = \frac{V \times 0,1 \times 0,014 \times 100}{g}$$

Em que:

g nitrogênio: quantidade total de nitrogênio presente na amostra;

V: quantidade gasta na titulação (mL);

g: peso da amostra (g).

O fator de conversão adotado para estimar a porcentagem de proteína foi de 6,25, levando em consideração que as proteínas contêm, em média, 16 % de nitrogênio (SILVA; QUEIROZ, 2002).

$$\text{g PTN em 100 g ou 100 mL (\%)} = \text{g nitrogênio} \times F$$

### 3.12.2. Teor de Açúcares totais (AT)

Para estimar a quantidade de açúcares totais presente em cada amostra, foi pesado aproximadamente 5 g de cada uma, transferindo posteriormente para um erlenmeyer de 250 mL. Em seguida, foi adicionado 5 mL de ácido clorídrico e completado com água destilada até 250 mL. Estes frascos foram levados até a chapa aquecedora a 300 °C durante 3 h, contadas a partir do início da ebulição. Conforme a evaporação da solução foi adicionando água destilada para manter o volume constante, sendo que próximo do término das 3 h, foi completado o volume para cerca de 100 mL. Esta solução foi corrigida para pH 7,0 por meio da adição de hidróxido de sódio (NaOH) a 40 %. Posteriormente, foi medido o volume final da solução e sequencialmente filtrada. O filtrado foi adicionado a bureta de 10 mL para titulação. Em cada frasco de erlenmeyer foi adicionado 10mL de Fehling A e B e 40 mL de água destilada. Esta solução foi aquecida até a ebulição. Por fim, foi feita a titulação até que a solução aquecida passasse de azul para incolor, com resíduo de  $\text{Cu}_2\text{O}$  no fundo do frasco (coloração “vermelho-tijolo”). A porcentagem de açúcares totais foi calculada da seguinte forma:

$$\% \text{ AT} = \frac{100 \times V \times a}{P \times v}$$

Em que:

% AT: porcentagem de açúcares totais;

V: volume total da solução adicionada a bureta (mL);

a: g de glicose para cada 10 mL das soluções de Fehling (0,047);

v: volume gasto na titulação (mL);

P: massa da amostra (g).

#### 4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Inicialmente, os dados experimentais obtidos na Safra de “Verão” de 2012/2013 e “Outono-inverno” de 2013 foram submetidos ao teste de homocedasticidade das variâncias (Levene) e normalidade dos erros (Shapiro-Wilk) a 5 % de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008). Uma vez atendidos as pressuposições básicas da estatística, os dados foram submetidos à análise de variância individual (ZIMMERMANN, 2014), utilizando o mesmo programa estatístico citado anteriormente. O modelo matemático adotado foi:

$$Y_{ijkl} = m + b_i + A_j + B_k + C_l + AB_{jk} + AC_{jl} + BC_{kl} + ABC_{jkl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Em que:

$Y_{ijkl}$ : valor observado na ijkl-ésima parcela;

$m$ : média geral do experimento sob restrição matemática;

$b_i$ : efeito associado ao i-ésimo bloco;

$A_j$ : efeito do j-ésimo nível do fator Inoculante (A);

$B_k$ : efeito do k-ésimo nível do fator N na semeadura (B);

$C_l$ : efeito do l-ésimo nível do fator N em cobertura (C);

$AB_{jk}$ : efeito da interação do j-ésimo nível do fato A com o k-ésimo nível do fator B;

$AC_{jl}$ : efeito da interação do j-ésimo nível do fato A com o l-ésimo nível do fator C;

$BC_{kl}$ : efeito da interação do k-ésimo nível do fato B com o l-ésimo nível do fator C;

$ABC_{jkl}$ : efeito da interação do j-ésimo nível do fator A com o k-ésimo nível do fator B com o l-ésimo nível do fator C;

$\varepsilon_{ijkl}$ : efeito residual associado ao i-ésimo bloco com o j-ésimo nível do fator A com o k-ésimo nível do fator B com o l-ésimo nível do fator C.

Portanto, os efeitos das doses de inoculante e suas respectivas interações foram submetidos ao teste de regressão polinomial ( $P \leq 0,05$ ). Por outro lado, as médias dos fatores N na semeadura e N em cobertura foram analisadas mediante aplicação do teste F ( $P \leq 0,05$ ), pois fatores com apenas dois níveis o F é conclusivo (BANZATTO; KRONKA, 2006). Os desdobramentos ocorreram nas interações que foram significativos, pelo teste F, na análise de variância (Tabela 2A e 3A). Todos os fatores foram considerados de efeitos fixos.

No teste de regressão polinomial foram observados os resultados do teste t de Student (1908) ( $P \leq 0,05$ ) para os coeficientes da regressão ( $\beta_n$ ) e do teste F na análise de variância para os  $\beta_n$  ( $P \leq 0,05$ ) e para o desvio da regressão ( $P > 0,05$ ).

## 5. ANÁLISE ECONÔMICA

A análise econômica foi realizada mediante os preços do fertilizante nitrogenado (uréia) e do inoculante (MasterFix L. Gramíneas<sup>®</sup>) sugeridos pelas cooperativas agrícolas e revendas agropecuárias do Paraná. Por sua vez, o preço das espigas de milho verde (R\$ kg<sup>-1</sup>) foi determinado com base na feira dos produtores rurais de Maringá, Paraná.

A eficiência econômica proporcionada pela inoculação foi calculada mediante a dose que possibilitou o maior incremento em espigas comerciais despalhadas. Por outro lado, caso não foi possível à análise econômica por meio dos efeitos da inoculação, foi realizada, por tanto, o cálculo em função da adubação nitrogenada (SPAGNOLLO et al., 2001; PAVINATO, 2008).

Os custos totais da cultura do milho doce corresponderam à soma dos custos com fertilizante nitrogenado e as sementes do híbrido RB 6324.



## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1. Condições climáticas**

Na Safra de “Verão” de 2012/2013 a precipitação pluvial foi de 393,8 mm e a temperatura média observada foi de 26,2 °C durante a condução do experimento, sendo a máxima de 39,0 °C e mínima de 16 °C, considerada adequada para o crescimento e desenvolvimento das plantas (FERRAZ, 1966). Portanto, a exigência hídrica pela cultura do milho doce não foi atendida, com isso, a suplementação de água via irrigação foi necessária, principalmente no período entre a semeadura e o estágio  $V_T$  (pendoamento). De acordo com Aldrich et al. (1982), a quantidade de água requerida pela cultura do milho durante seu ciclo é de em torno de 600 mm. Enquanto que as temperaturas de 10 °C, 30 °C e 41 °C são consideradas mínima, ótima e máxima, respectivamente, para o crescimento do milho (FERRAZ, 1966). Inúmeros trabalhos realizados com milho comum mostram que a temperatura base para a cultura, em média, é de 10 °C (GADIOLI et al., 2000; NIED et al., 2005).

Por sua vez, na Safra de “Outono-Inverno” de 2013 a precipitação pluvial observada durante a condução do experimento foi de 507,0 mm e a temperatura média observada foi de 22,6 °C, sendo a máxima de 34 °C e a mínima de 8 °C. Apesar do volume de chuva ter atendido as exigências do milho doce, foi necessário suplementar água por meio da irrigação principalmente nos períodos críticos da cultura, devido à distribuição irregular das chuvas durante o crescimento e desenvolvimento das plantas de milho doce. Ao contrário do que foi observado na Safra de “Verão”, o período de maior precipitação pluvial ocorreu entre a semeadura e o estágio  $V_8$  aproximadamente. Quanto à temperatura, não foi observado riscos no que diz respeito à geada durante o período de condução.

### **6.2. Safra de “Verão”**

#### **6.2.1. Avaliações fitotécnicas da parte aérea das plantas**

Dentre as características da parte aérea (EP e IAF) do milho doce analisadas, apenas o IAF foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) em relação às doses de inoculante, na média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura.

### 6.2.1.1. Altura de plantas (AP)

Em relação à variável AP não foram encontradas respostas significativas na Safra de “Verão” 2012/2013 (Tabela 2A), com média geral de 2,24 m. Os resultados obtidos no presente estudo discordam daqueles encontrados por Braccini et al. (2012) que encontram diferença significativa para esta variável em milho comum quando as sementes foram tratadas com as mesmas estirpes (AbV5 e AbV6) de *A. brasilense* na Safra de “Verão”. Este fato pode estar relacionado às culturas anteriores (aveia-preta e nabo forrageiro) que disponibilizaram o N durante o crescimento e desenvolvimento das plantas de milho doce, beneficiando, dessa forma, todas as plantas do experimento no que diz respeito à altura. Silva et al. (2008) observaram que os resíduos do nabo forrageiro contribuíram com aproximadamente 100 kg ha<sup>-1</sup> de N para o milho em sucessão.

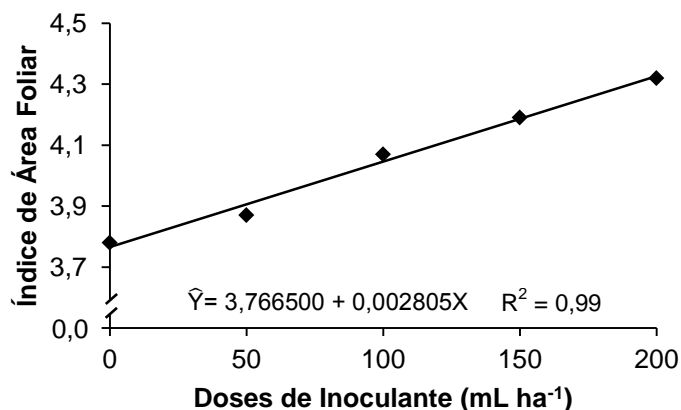
Os resultados obtidos são semelhantes aos encontrados por Lana et al. (2012), que trabalharam com dois níveis de inoculação (0 e 200 g ha<sup>-1</sup>) contendo *A. brasilense* (AZ39), dois níveis de adubação na semeadura (0 e 20 kg ha<sup>-1</sup>) e dois níveis em cobertura (0 e 100 kg ha<sup>-1</sup>) na cultura do milho comum. Esses autores atribuíram às características genéticas de cada híbrido como responsáveis pela não significância em estatura de plantas. Trabalho realizado por Campos, Theisen e Gnatta (2000) com *Azospirillum* spp. em milho comum também não encontraram respostas agrônomicas favoráveis para altura de plantas. Dartora et al. (2013) não encontraram efeitos significativos para essa variável resposta tanto no estágio vegetativo (V<sub>8</sub>) quanto no reprodutivo (R<sub>1</sub>) quando inoculados com *A. brasilense* (AbV5) e/ou *H. seropedicae* no milho comum.

### 6.2.1.2. Índice de área foliar (IAF)

Houve um ajuste linear crescente do índice de área foliar em função das doses de inoculante. O modelo de ajuste foi  $\hat{Y} = 3,766500 + 0,002805$  e com R<sup>2</sup> de 0,99. Dessa forma, a cada unidade da dose de inoculante aplicada, via tratamento de sementes incrementou-se 0,003 no IAF do milho doce. Por sua vez, o IAF proporcionado pela máxima dose estudada (200 mL ha<sup>-1</sup>) foi de 4,33.

Gholami, Shahsavani e Nezarat (2009) encontraram efeito positivo para a variável área foliar quando as sementes de milho foram inoculadas com *A. brasilense* DMS 1690

comparado à testemunha (sem inoculação) tanto em solos não esterilizados como esterilizados. Por outro lado, Dartora et al. (2013) trabalhando com *A. brasilense* (estirpe AbV5) e *H. seropedicae* (SmR1) na cultura do milho comum não encontraram respostas significativas para área foliar tanto no estágio vegetativo ( $V_8$ ) quanto no reprodutivo ( $R_1$ ).



**Figura 2.** Índice de área foliar em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. Média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura.

De acordo com a Tabela 3, não houve diferença significativa entre a aplicação de N em cobertura e a aplicação de N em ambas as épocas (semeadura e cobertura). Da mesma forma, a adubação nitrogenada na semeadura não diferiu estatisticamente no IAF em relação ao tratamento que recebeu o N nas duas épocas. Por outro lado, a aplicação de N na semeadura ou em cobertura, de forma isolada, diferiu e foi superior à testemunha.

Independente da época de aplicação de N, a disponibilidade desse nutriente incrementou positivamente o IAF. Segundo Wolschick et al. (2003) folhas bem nutridas em N têm maior capacidade de assimilar  $CO_2$  e sintetizar carboidratos durante a fotossíntese, resultando no acúmulo de massa seca e no aumento do rendimento de grãos.

**Tabela 3.** Índice de área foliar (IAF) desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura e dentro dos níveis do fator N em cobertura, na média das cinco doses de inoculante sobre na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Época de aplicação de nitrogênio		
N na Semeadura (kg ha <sup>-1</sup> )	N em Cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	
	0,0	110,0
0,0	3,80 aB	4,22 aA

(Continuação)

30,0

4,14 bA

4,03 aA

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

Os altos valores de IAF se devem principalmente pela fixação biológica de N, pelas culturas antecessoras (aveia-preta e nabo forrageiro) e pela adubação nitrogenada realizada na semeadura e em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura. Sabe-se também que as bactérias do gênero *Azospirillum* têm a capacidade de sintetizar fitormônios e, com isso, conseguem promover o aumento de número de raízes laterais e pelos radiculares, ampliando, dessa forma, a superfície da raiz para absorção mais eficiente dos nutrientes (STEENHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000), dentre eles, o nitrogênio. Essa contribuição favorece positivamente a capacidade fotossintética da população vegetal por estar relacionado à área de assimilação do CO<sub>2</sub>, pois as folhas fotossinteticamente ativas são preservadas por mais tempo (DIDONET et al., 2000).

### 6.2.2. Teor de nitrogênio na folha (TNF)

As médias de TNF não se ajustaram de forma significativa à regressão referente às doses de inoculante e a adubação nitrogenada na ocasião da semeadura. Por outro lado, quando foi realizada a aplicação de N em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura houve um efeito positivo ( $P \leq 0,01$ ) no TNF.

O TNF proporcionado pela dose de 110 kg ha<sup>-1</sup> foi de 30,00 g kg<sup>-1</sup>, incremento de 2,78 g kg<sup>-1</sup> em relação à testemunha (0 kg ha<sup>-1</sup>) (Tabela 4). Diante do exposto, a inoculação com *A. brasilense* não aumentou de forma significativa o TNF do híbrido RB 6324. Resultados semelhantes foram encontrados por Machado et al. (1998), que não verificaram efeitos significativos da inoculação com bactérias diazotróficas no TNF no milho Nitroflint, porém, a adubação nitrogenada em cobertura (100 kg ha<sup>-1</sup>) incrementou positivamente o teor de N na planta.

Cerrato e Blackmer (1991) estimaram o nível crítico de N na folha índice do milho comum em 21,0 g kg<sup>-1</sup>. Por outro lado, Ferreira et al. (2001) estimaram o nível crítico de N para obter 90 % do rendimento máximo de grãos no milho comum em 27,3 e 20,0 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente, aos 45 (antes do pendramento) e 63 dias (início do estágio R<sub>1</sub>) após a emergência. Portanto, o teor de N-foliar foi considerado como adequado, mesmo nos tratamentos que não receberam N.

**Tabela 4.** Teor de nitrogênio na folha índice (TNF) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na semeadura na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N em cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	TNF (g kg <sup>-1</sup> )
0,0	27,22 b
110,0	30,00 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P \leq 0,01$ ), pelo teste F.

O uso dessa característica é capaz de detectar deficiências e consumo de luxo pela planta de milho, ou seja, o teor de N continua aumentando e o rendimento de grãos permanece estável com altas doses deste nutriente (RAMBO et al., 2004). Por esse motivo que é difícil de obter níveis críticos de N, devido à perda de sensibilidade a essa característica (BINFORD; BLACKMER; CERRATO, 1992; BLACKMER; SCHEPERS, 1994).

Trabalho realizado por Lourente et al. (2007) com diferentes doses de N em cobertura e diferentes coberturas de solo, observaram que o teor de N-foliar foi influenciado pelas culturas antecessoras ao milho, sendo que, o teor máximo foi atingido em sucessão à aveia-preta (27,4 g kg<sup>-1</sup>) e pousio (29,6 g kg<sup>-1</sup>), quando foram aplicados 150,1 e 169,3 kg ha<sup>-1</sup> de N, respectivamente. Tais resultados mostram a importância da cultura antecessora no acúmulo de N durante o crescimento e desenvolvimento do milho em combinação com a adubação nitrogenada.

### **6.2.3. Avaliações fitotécnicas dos componentes de produção**

No que se refere ao NFE, NGF e PED não foram encontradas efeitos positivos na Safra de “Verão” 2012/2013. Por outro lado, a PECD teve ajuste significativo da regressão ( $P \leq 0,05$ ), com média dos fatores N na semeadura e N em cobertura.

#### **6.2.3.1. Número de fileiras de grãos por espiga (NFE)**

Na variável NFE não foram encontrados efeitos significativos (Tabela 2A) para os tratamentos estudados, com média geral de 16,4 fileiras. Isto se deve, provavelmente, à disponibilidade significativa de N no período em que foi conduzido o experimento, principalmente nos estádios iniciais da cultura. Esses resultados condizem com os encontrados por Novakowski et al. (2011) em milho comum, onde não observaram respostas

significativas em relação à testemunha (não inoculado) quando as sementes foram tratadas com *A. brasilense* (cepa BR 11005), em Guarapuava, Paraná. Trabalho realizado por Cavallet et al. (2000) com *Azospirillum* spp., também não obtiveram respostas significativas para o NFE na cultura do milho comum.

De acordo com Fancelli e Dourado-Neto (2000), o número de fileiras de grãos por espiga é definido no estágio V<sub>8</sub> da cultura, fase em que a disponibilidade de N é essencial, pois é nesta época em que se inicia o período de maior demanda por este nutriente. Diante do exposto, não houve restrições hídricas e de nutrientes que permitiram efeitos significativos entre os tratamentos em questão no período em que é definido o NFE.

### **6.2.3.2. Número de grãos por fileira (NGF)**

Da mesma forma que o NFE, os tratamentos não influenciaram significativamente no NGF (Tabela 1A) na Safra de “Verão” 2012/2013, com média geral de 41,3 grãos por fileira. Novakowski et al. (2011) também não encontraram respostas significativas para NGF na cultura do milho comum quando foi inoculado com *A. brasilense*. Esses resultados discordam do encontrado por Fulchieri e Frioni (1994) na Argentina.

A disponibilidade de N durante todo ciclo da cultura é fundamental, ficando evidente principalmente no período de enchimento de grãos. Porém, altas concentrações de N na fase inicial são essenciais, pois ocorrem as diferenciações de várias partes da planta e a ocorrência de deficiência de N reduz significativamente o número de óvulos nos primórdios da espiga (SCHEREIBER et al., 1988; YAMADA; ABDALLA, 2000), afetando, posteriormente, o número potencial de sementes. De acordo com Magalhães e Durães (2006), a determinação do NGF só é definida cerca de uma semana antes do florescimento, em torno do estágio V<sub>17</sub>. Este fato explica os resultados obtidos no presente estudo, onde não foi constatada deficiência de umidade devido à suplementação de água por meio da irrigação por aspersão em períodos críticos da cultura e por nutrientes que promovessem diferenças significativas no NGF.

### **6.2.3.3. Produtividade de espigas despalhadas (PED)**

Em relação à PED, houve diferença estatística quando foi realizada adubação nitrogenada em cobertura (Tabela 2A), com incremento de 0,60 Mg ha<sup>-1</sup> ou 4,7% comparado

à testemunha (0,0 kg ha<sup>-1</sup>) (Tabela 5). Por outro lado, as médias não apresentaram ajustes significativos de regressão para as doses de inoculante.

Trabalho realizado por Hungria et al. (2010) com *A. brasilense* e *A. lipoferum* na cultura milho comum e do trigo, encontraram respostas positivas em relação a produtividade de grãos, com incremento de 662 a 823 kg ha<sup>-1</sup>, ou 13 a 18 % comparado à testemunha (não inoculado). Os mesmos autores recomendaram as estirpes AbV4, AbV5, AbV6 e AbV7 de *A. brasilense* para milho. Fuchieri e Frioni (1994), Cavallet et al. (2000) e Lana et al. (2012) também observaram respostas significativas em produtividade no milho comum, quando as sementes foram inoculadas com *Azospirillum* spp.. Os resultados demonstram também que a seleção de estirpes de *A. brasilense* é importante e pode resultar na impressionante contribuição tanto para cultura do milho quanto para o trigo. Por outro lado, Stancheva et al. (1992) e Dartora et al. (2013) não observaram efeitos significativos na produtividade de grãos no milho comum inoculado com *A. brasilense*.

Braccini et al. (2012) não observaram diferença estatística entre o tratamento que recebeu o inoculante contendo *A. brasilense* associado a adubação nitrogenada em cobertura e o tratamento que recebeu o *A. brasilense* associado a metade da dose recomendada de N em cobertura. Neste caso, poderia reduzir a dose de N em cobertura quando as sementes forem inoculadas com a bactéria diazotrófica, colaborando, dessa forma, na economia de fertilizante nitrogenado.

**Tabela 5.** Produtividade de espigas despalhadas (PED) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estádio V<sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na semeadura na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N em cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	PED (Mg ha <sup>-1</sup> )
0,0	12,06 b
110,0	12,66 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (P ≤ 0,05), pelo teste F.

Resultados semelhantes foram observados por Dartora et al. (2013), que encontraram respostas positivas em produtividade de grãos apenas quando foi realizada adubação em cobertura, ou seja, na ausência das bactérias diazotróficas.

As respostas referentes à produtividade de grãos ou espigas, como verificados em trabalhos realizados com bactérias diazotróficas, podem variar de acordo com as estirpes (HUNGRIA et al., 2010), condições ambientais, competição microbiana no solo (OKON;

KAPULNIK, 1986), genótipos de milho que são utilizados no campo (SALOMONE; DÖBEREINER, 1996; QUADROS et al., 2014) e o tipo de solo a ser cultivado (FELLIK; OKON, 1996). Portanto, pesquisas a nível regional e repetições de safras são necessárias para concluir de forma decisiva os efeitos benéficos da inoculação. Mendonça, Urquiaga e Reis (2006) trabalhando com nove genótipos de milho comum e com diferentes bactérias diazotróficas, dentre elas, o *Azospirillum lipoferum* (estirpe S82), não observaram contribuição da fixação biológica de nitrogênio.

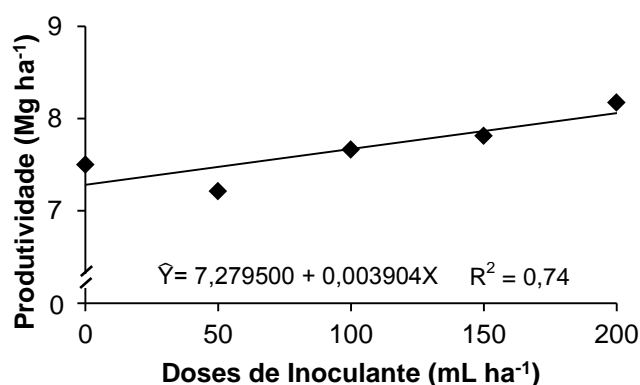
#### **6.2.3.4. Produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD)**

As médias da PECD se ajustaram de forma linear crescente referente às doses de inoculante (fator principal), com  $\hat{Y} = 7,279500 + 0,003904X$  e  $R^2$  de 0,74. A cada unidade de inoculante adicionado via tratamento de sementes incrementou em  $0,004 \text{ Mg ha}^{-1}$  na PECD. A produtividade alcançada pelo modelo em relação à máxima dose estudada foi de  $8,06 \text{ Mg ha}^{-1}$ . Esses resultados sugerem que a fixação biológica de N influenciaram significamente a qualidade das espigas de milho doce, uma vez que, as espigas ditas comerciais devem atender as seguintes características: maiores que 15 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro; isentas de ataques de insetos-praga e doenças (PEREIRA FILHO, 2003; ALBUQUERQUE et al., 2008).

Diante dos resultados da análise de regressão para PECD, o incremento foi de  $0,78 \text{ Mg ha}^{-1}$  ou 9,7 % em relação a dose máxima estudada ( $200 \text{ mL ha}^{-1}$ ) e a testemunha (sem inoculação).

O fato do aumento da inoculação de forma significativa, a PECD, é razoável concluir que essa tecnologia afeta positivamente a renda líquida do produtor rural, uma vez que, contribuiu na densidade de espigas e qualidade do produto.





**Figura 3.** Produtividade de espigas comerciais despalhadas em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. Média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura.

Por meio da análise de correlação entre IAF e PECD, foi possível verificar a correlação positiva (coeficiente de 0,92) entre as duas variáveis respostas. Neste contexto, o potencial de rendimento do milho está embasado na quantidade da radiação solar incidente, da eficiência da interceptação, da conversão da radiação em fitomassa e da eficiência de partição de fotoassimilados em estruturas de interesse econômico (SANGOI et al., 2002; FORSTHOFER et al., 2006). Uhart e Andrade (1995) ressaltam que a redução da atividade fisiológica das principais fontes produtoras de fotoassimilados na planta interfere significativamente na redistribuição de carboidratos, alterando a velocidade e intensidade da senescência foliar, e conseqüentemente, o acúmulo de matéria seca nos grãos.

#### 6.2.4. Composição química dos grãos

As variáveis respostas proteína e açúcares totais responderam positivamente ( $P \leq 0,05$ ) a inoculação e a adubação nitrogenada na Safra de “Verão” 2012/2013. A análise de regressão polinomial para o TP nos grãos apresentou interação de segunda ordem. Por sua vez, para açúcares totais, apresentou interação de primeira ordem (Tabela 2A).

##### 6.2.4.1. Teor de Proteína (TP)

Com relação ao teor de proteína nos grãos de milho doce, foi observado interação de segunda ordem, ou seja, os fatores inoculação, adubação de N na semeadura e em cobertura agem de modo dependente sobre o teor de proteína. Diante disso, para a interação I x NS (0,0

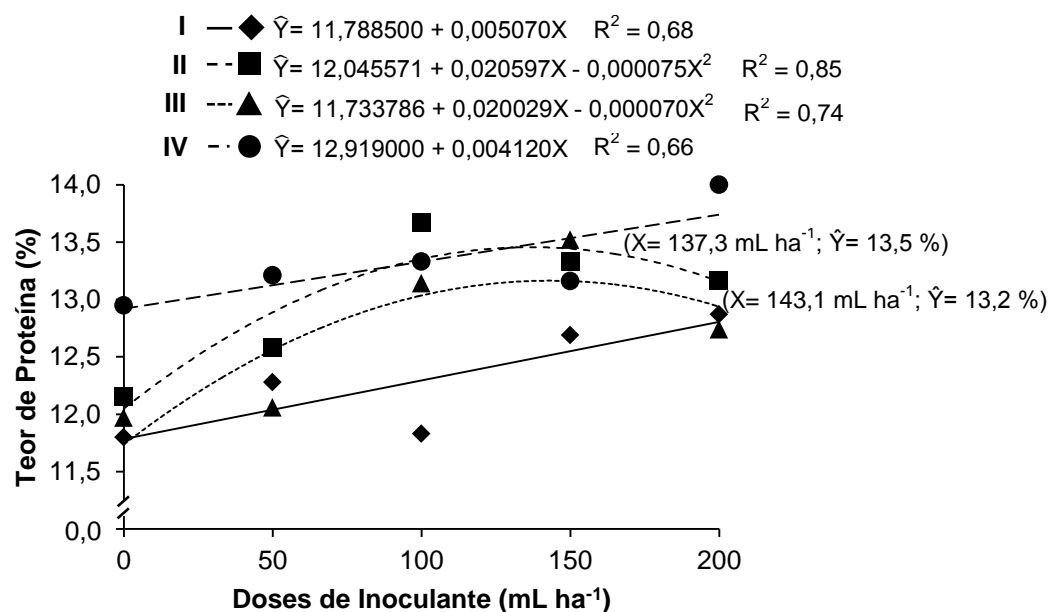
kg ha<sup>-1</sup>) x NC (0,0 kg ha<sup>-1</sup>) o modelo que melhor representou foi o linear crescente ( $P \leq 0,05$ ) com a equação  $\hat{Y} = 11,788500 + 0,005070X$  e  $R^2$  de 0,68. Na interação I x NS (0,0 kg ha<sup>-1</sup>) x C (110,0 kg ha<sup>-1</sup>) o modelo de regressão que melhor explicou o comportamento dos dados foi o quadrático ( $P \leq 0,05$ ) com a equação  $\hat{Y} = 12,045571 + 0,020597X - 0,000075X^2$  e  $R^2 = 0,85$ . O modelo que representou melhor a interação I x NS (30,0 kg ha<sup>-1</sup>) x NC (0,0 kg ha<sup>-1</sup>) foi o quadrático ( $P \leq 0,01$ ) com a equação  $\hat{Y} = 11,733786 + 0,020029X - 0,000070X^2$  e  $R^2$  de 0,74. Por sua vez, a interação I x NS (30,0 kg ha<sup>-1</sup>) x NC (110,0 kg ha<sup>-1</sup>) teve um comportamento linear crescente com equação de  $\hat{Y} = 12,919000 + 0,004120X$  e  $R^2$  de 0,66.

O teor de proteína proporcionado pela máxima dose (200 mL ha<sup>-1</sup>) estudada foi de 12,8 % para interação I x NS (0,0 kg ha<sup>-1</sup>) x NC (0,0 kg ha<sup>-1</sup>), com incremento de 1,0 % em relação à testemunha (11,8 %). A cada unidade de inoculante adicionada, via tratamento de sementes, incrementou em 0,005 % no teor de proteína nos grãos de milho doce (Figura 4). Fica evidente que mesmo na ausência da adubação nitrogenada, a fixação biológica de N afetou positivamente a qualidade química dos grãos de milho doce. Vale ressaltar que a fertilidade química do solo (Tabela 1) e os resíduos das culturas anteriores colaboraram para elevar o teor de TP nos grãos, mesmo na ausência de fertilizante nitrogenado.

Na interação I x NS (0,0 kg ha<sup>-1</sup>) x NC (110,0 kg ha<sup>-1</sup>) o ponto de máximo proporcionado pela dose de 137,3 mL ha<sup>-1</sup> foi de 13,5 % (Figura 4), cujo incremento foi de 1,0 % no TP.

No caso da interação I x NS (30 kg ha<sup>-1</sup>) x NC (0 kg ha<sup>-1</sup>) o ponto de máximo proporcionado pela dose de 143,1 mL ha<sup>-1</sup> foi de 13,2 % (Figura 4), com incremento de 1,1 % em TP. Pode-se observar que esse tratamento pouco diferiu no teor de TP em relação ao tratamento que recebeu adubação em cobertura. Neste contexto, a inoculação das sementes de milho doce (RB 6324) associada à adubação nitrogenada na ocasião da semeadura contribuiu de forma significativa no teor de proteína nos grãos, mesmo na ausência de N em cobertura.

Na interação I x NS (30,0 kg ha<sup>-1</sup>) x NC (110,0 kg ha<sup>-1</sup>) a máxima dose estudada proporcionou um incremento de 13,74 % em proteína nos grãos (Figura 4). Portanto, a cada unidade de inoculante adicionada, via tratamento de sementes, aumentou em 0,004 % no TP.



**Figura 4.** Teor de proteína (%) nos grãos do milho doce (RB 6324) em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes, associado à adubação nitrogenada na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. I- Apenas inoculante; II- Adubação nitrogenada em cobertura; III- Adubação nitrogenada na semeadura; e IV- Adubação nitrogenada na semeadura e em cobertura.

A combinação de inoculante com adubação nitrogenada incrementou de forma significativa o TP nos grãos de milho doce (Tabela 6), sendo que a aplicação de 200 mL ha<sup>-1</sup> de inoculante associada às doses de 30,0 kg ha<sup>-1</sup> e 110,0 kg ha<sup>-1</sup> de N aplicadas na ocasião da semeadura e em cobertura, respectivamente, possibilitou maior acúmulo de proteína nos grãos.

**Tabela 6.** Teor de proteína nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N em cobertura, em função das doses de N aplicadas na semeadura dentro de cada dose de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de inoculante (mL ha <sup>-1</sup> )	N na semeadura (kg ha <sup>-1</sup> )	N em cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	
		0,0	110,0
0	0,0	11,80 a	12,75 a
0	30,0	11,97 b	12,95 a
50	0,0	12,28 a	12,58 a
50	30,0	12,06 b	13,21 a
100	0,0	11,83 b	13,67 a
100	30,0	13,14 a	13,33 a

(Continuação)

150	0,0	12,69 a	13,33 a
150	30,0	13,52 a	13,16 a
200	0,0	12,87 a	13,16 a
200	30,0	12,74 b	14,01 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas na linha ( $P \leq 0,05$ ) diferem entre si, pelo teste F.

De acordo com a Tabela 7, houve diferença estatística apenas quando foi aplicado 100 mL ha<sup>-1</sup> de inoculante associada à adubação nitrogenada na semeadura, com acréscimo de 1,31 % em proteína nos grãos.

**Tabela 7.** Teor de proteína nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura, em função das doses de N aplicadas em cobertura dentro de cada dose de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de inoculante (mL ha <sup>-1</sup> )	N em cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	N na semeadura (kg ha <sup>-1</sup> )	
		0,0	30,0
0	0,0	11,81 a	11,97 a
0	110,0	12,15 a	12,95 a
50	0,0	12,28 a	12,06 a
50	110,0	12,58 a	13,21 a
100	0,0	11,83 b	13,14 a
100	110,0	13,67 a	13,33 a
150	0,0	12,69 a	13,52 a
150	110,0	13,33 a	13,16 a
200	0,0	12,87 a	12,74 a
200	110,0	13,16 a	14,00 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas na linha ( $P \leq 0,05$ ) diferem entre si, pelo teste F.

Kwiathowski, Clemente e Scapim (2011) trabalhando com vinte e um híbridos simples de milho doce observaram que os teores de proteína variaram de 10,36 % a 12,88 %. Estes resultados estão próximos ao encontrado no presente estudo, com média geral de 12,98 %.

Ferreira et al. (2001) e Bueno et al. (2009) encontraram respostas positivas no teor de proteína quando foi fornecido N para a cultura do milho comum. Os valores encontrados por Bueno et al. (2009) variaram de 8,76 % a 11,42 % de TP nos grãos.

Saubidet, Fatta e Barneix (2002) trabalhando com a cultura do trigo inoculado com *A. brasilense* BNM-10, observaram aumento significativo no teor de proteína nos grãos. Esses mesmos autores afirmam que o incremento se deve a maior absorção de N proporcionado pelas bactérias.

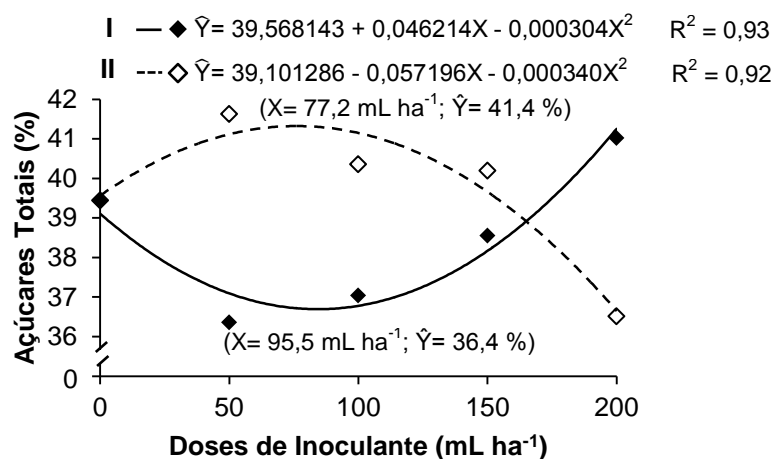
Trabalho realizado por Naserirad, Soleymanifard e Naseri (2011) com três cultivares de milho comum e duas bactérias fixadoras de N (*Azospirillum* e *Azotobacter*), encontraram efeitos positivos no teor de proteína nos grãos em associação com os três genótipos de milho.

De acordo com Lea e Azevedo (2006) a disponibilidade de N é considerada primordial para elevar o valor nutricional do milho, pois esse elemento é constituinte de vários elementos orgânicos, tais como: enzimas, vitaminas, aminoácidos e proteínas presentes nos grãos. Quanto à taxa de exportação de N para os grãos na cultura do milho comum pode variar de 70 a 77 % (COELHO-2006)- o que demonstra a importância da nutrição desse elemento durante o ciclo da cultura para síntese de proteínas nos grãos.

#### **6.2.4.2. Teor de Açúcares totais (AT)**

O AT variou com as aplicações das doses de inoculante via tratamento de sementes em combinação com as doses de N na semeadura, ou seja, houve uma interação de primeira ordem. Após o desdobramento da interação I x NS, o melhor ajuste do modelo foi o quadrático para ambas as doses, sendo  $\hat{Y} = 39,101286 - 0,057196X + 0,000340X^2$  e  $R^2$  de 0,93 na ausência da adubação nitrogenada, e  $\hat{Y} = 39,568143 + 0,046214X - 0,000304$  com  $R^2$  de 0,92 para a dose de 30 kg ha<sup>-1</sup>. Além disso, a aplicação de N em cobertura influenciou significativamente o AT nos grãos.

De acordo com a derivação da equação de segundo grau para a dose de 30,0 kg ha<sup>-1</sup> (Figura 5), o ponto de máximo proporcionado pela dose de 77,2 mL ha<sup>-1</sup> foi de 41,4 % de AT nos grãos de milho doce. Por sua vez, o ponto de mínimo encontrado na ausência de N foi de 36,4 % correspondendo à dose de 95,5 mL do inoculante, a partir desse ponto houve um incremento no teor de AT. Segundo Pereira Filho, Cruz e Gama (2003) os híbridos de milho doce contendo o gene *shrunken-2* (*sh2*) que caracteriza o grupo superdoce, como é o caso do híbrido utilizado no presente estudo, tem em torno de 25 % de açúcar.



**Figura 5.** Teor de açúcares totais (%) nos grãos do milho doce (RB 6324) em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes combinadas com adubação nitrogenada na semeadura na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. Média das duas doses de N aplicadas no estágio V<sub>4</sub> da cultura. I- 0,0 kg ha<sup>-1</sup>; e II- 30,0 kg ha<sup>-1</sup>.

De acordo com a Tabela 8, a aplicação de 50 mL ha<sup>-1</sup> de inoculante associada à adubação nitrogenada na ocasião da semeadura incrementou em 5,27 % no TA nos grãos de milho doce. Por outro lado, quando foi aplicado 200 mL ha<sup>-1</sup> houve um decréscimo de AT em combinação com a dose de 30,0 kg ha<sup>-1</sup> de N aplicada na semeadura. Provavelmente, quantidades significativas de N foram direcionadas para síntese de aminoácidos, proteínas e outros metabólitos contendo N.

**Tabela 8.** Teor de açúcares totais nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura, em função das doses de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

N na Semeadura (kg ha <sup>-1</sup> )	Inoculante (mL ha <sup>-1</sup> )				
	0	50	100	150	200
0,0	39,42 a	36,36 b	37,04 a	38,55 a	41,02 a
30,0	39,44 a	41,63 a	40,36 a	40,20 a	36,51 b

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

A aplicação de 110,0 kg ha<sup>-1</sup> no estágio V<sub>4</sub> da cultura possibilitou menor síntese de açúcares totais nos grãos em detrimento da ausência de N (Tabela 9), devido provavelmente à conversão do N-foliar ter direcionado de forma significativa para a síntese de proteínas ou outros metabólitos contendo N em sua estrutura (KUSANO et al., 2011). Singletary e Below (1989) avaliando a composição química dos grãos de milho in vitro com diferentes concentrações de N, observaram que o acréscimo de N no sistema diminuiu o conteúdo de

açúcares solúveis no endosperma em detrimento do conteúdo de proteína (zeínas, gluteninas, albuminas e globulinas).

**Tabela 9.** Teor de açúcares totais nos grãos (AT) desdobrados dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na semeadura na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N em cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	AT (%)
0,0	40,60 a
110,0	37,51 b

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

Trabalho realizado por Souza et al. (2013) com diferentes populações de plantas de milho doce (RB 6324 e Tropical Plus) contendo o gene *sh2*, encontraram um teor médio de 27,1 %, sendo o valor máximo estimado foi de 30,5 %. Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com Laughnan (1953) e Hill (2002), nos quais sugerem valores superiores a 30,0 % de AT para o grupo superdoce.

As condições climáticas favoráveis (Figura 1), bem como a fertilidade química do solo (Tabela 1) e a fixação biológica de N permitiram obter elevados AT nos grãos do híbrido estudado. Neste sentido, efeitos positivos no IAF também colaboraram na eficiência da interceptação da radiação solar incidente que, por sua vez, permitiram a planta de milho doce sintetizar maior quantidade de fotoassimilados nos órgãos fonte para serem translocados para os grãos (drenos) para a produção de açúcares, que é o produto desejado para esse tipo de milho especial. De acordo com Tracy (2001), no momento da colheita os grãos de milho doce apresentam de quatro a oito vezes a quantidade de açúcar em relação ao milho comum, caracterizando, dessa forma, o grupo superdoce.

Vale ressaltar que genótipos de milho que possuem altos teores de açúcares totais nos grãos possuem preferências para a indústria beneficiadora e para o consumidor final (ERDAL et al., 2011).

#### 6.2.5. Análise econômica

Conforme verificado no item 6.2.3.4 (PECD) o melhor ajuste do modelo foi o linear, com isso, não foi possível calcular a máxima eficiência econômica para a Safra de “Verão” no que diz respeito às doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes.

Tendo em vista que a análise econômica é fundamental para verificar a renda líquida em cada safra (SANGOI et al., 2003b), foi realizada, portanto, o cálculo econômico com base na PECD (8,06 Mg ha<sup>-1</sup>) proporcionada pela dose de 200 mL ha<sup>-1</sup> do inoculante. O resumo do resultado da análise econômica encontra-se na Tabela 10.

**Tabela 10.** Resumo da análise econômica do milho doce em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* (estirpes AbV5 e AbV6) na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná

Doses de Inoc.	Produtividade <sup>1</sup>	Receita <sup>2</sup>	Custo <sup>3</sup>	Retorno <sup>4</sup>	T.R. <sup>5</sup>
mL ha <sup>-1</sup>	Mg ha <sup>-1</sup>	R\$ ha <sup>-1</sup>	R\$ ha <sup>-1</sup>	R\$	%
0	7,28	12.157,60	1.155,00	11.002,60	-
200	8,26	13.794,20	1.215,50	12.578,70	12,5

<sup>1</sup>Na média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura.

<sup>2</sup>Receita bruta. Preço médio das espigas de milho verde: R\$ 1,67 kg<sup>-1</sup>. Levantamento realizado na feira dos produtores rurais de Maringá, Paraná.

<sup>3</sup>Custo total de produção, considerando o preço do inoculante (R\$ 0,11 mL<sup>-1</sup>) e o preço das sementes de milho doce (R\$ 420,00). Levantamento realizado nas Cooperativas Agrícolas do Paraná e na Revenda Agrícola de Londrina (PR).

<sup>4</sup>Retorno econômico, calculado pela diferença entre a receita bruta e o custo de produção.

<sup>5</sup>Taxa de retorno, em função dos valores do retorno econômico.

Conforme os resultados obtidos, a máxima dose estudada proporcionou um retorno financeiro na ordem de R\$ 1.576,10 ha<sup>-1</sup> ou 12,5 % em relação ao tratamento não inoculado. Demonstrando, dessa forma, que essa tecnologia pode agregar valor ao produto colhido, uma vez que a inoculação incrementou significativamente a PECD nessa safra.

Na cultura do trigo, Sala et al. (2007) observaram que a inoculação com *A. brasilense* proporcionou rentabilidade significativa (R\$ 145,00 ha<sup>-1</sup>) em associação com a adubação nitrogenada (120 kg ha<sup>-1</sup>), aplicando 70% do N na semeadura e 30 % em cobertura. Os fatores que levaram a maior produtividade e rentabilidade são devido a melhor interação planta-bactéria diazotrófica e pelo fato dos genótipos serem responsivos à adição de N.

De acordo com Forsthofer et al. (2006) a otimização do desempenho agrônômico e econômico da cultura depende da interação entre as condições climáticas, o nível do manejo utilizado e o potencial produtivo do genótipo.

### 6.3. Safra de “Outono-Inverno”

#### 6.3.1. Avaliações fitotécnicas da parte aérea das plantas



Os resultados obtidos na Safra de “Outono-Inverno” referentes às características da parte aérea do milho doce mostraram que a estatura de plantas respondeu significativamente às adubações realizadas na semeadura e em cobertura, porém, não houve ajuste significativo da regressão em relação às doses de inoculante. Por sua vez, o IAF apresentou ajuste significativo da regressão ( $P \leq 0,05$ ) e houve interação significativa ( $P \leq 0,01$ ) entre os níveis dos fatores N na semeadura e N em cobertura.

### 6.3.1.1. Altura de plantas (AP)

A AP foi influenciada pelas adubações realizadas na semeadura e em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 1993), havendo, portanto, uma interação significativa ( $P \leq 0,01$ ) entre os dois fatores. Por outro lado, não houve ajuste significativo da regressão para as doses de inoculante (Tabela 3A).

Diante dos resultados da AP, fica evidente que o N influenciou diretamente no crescimento e desenvolvimento das plantas de milho doce (Tabela 11), tanto a aplicação de N na semeadura quanto em cobertura favoreceu positivamente essa característica. A maior AP foi obtida quando o N foi aplicado na semeadura e em cobertura, com diferença de 0,27 m em relação à testemunha (ausência de aplicação de N). Esses resultados evidenciam que a sucessão sobre o milho da Safra de “Verão” de 2012/2013 proporcionou maior imobilização do N pelos microrganismos quimiorganotróficos do solo (ARGENTA et al., 1999; WOLSCHICK et al., 2003), pela alta relação C/N, favorecendo, de fato, maior resposta a adubação nitrogenada comparada ao cultivo após o consórcio de aveia-preta e nabo forrageiro.

**Tabela 11.** Altura de plantas (m) desdobrado dentro dos níveis do fator N na semeadura e dentro dos níveis do fator N em cobertura, na média das cinco doses de inoculante sobre a na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Época de aplicação de nitrogênio		
N na Semeadura (kg ha <sup>-1</sup> )	N em Cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	
	0,0	110,0
0,0	1,76 bB	1,92 bA
30,0	1,99 aB	2,03 aA

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

Dartora et al. (2013) trabalhando com *A. brasilense* e *H. seropedicae* no milho comum (30R50) não encontraram efeitos positivos em altura de plantas à inoculação, tanto no fator principal (inoculação) quanto na interação inoculação com a adubação nitrogenada em cobertura. Por outro lado, quando o N foi aplicado em cobertura, de forma isolada, proporcionou um modelo polinomial quadrático e linear na fase vegetativa e reprodutiva, respectivamente.

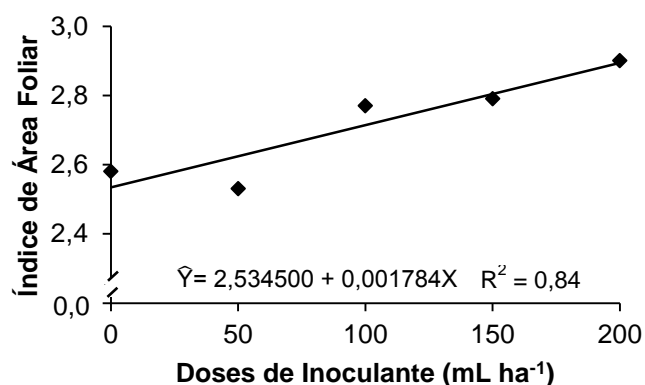
Fica evidente que a adubação nitrogenada influenciou diretamente o crescimento e desenvolvimento das plantas de milho, como verificado também no trabalho realizado por Mar et al. (2003) no período de “Outono-Inverno”.

Sangoi et al. (2007) ressaltam que a deficiência de N inibe o crescimento e acentua a dominância apical no milho, por constituir os componentes da célula vegetal, incluindo aminoácidos e ácidos nucleicos (TAIZ; ZEIGER, 2013), justificando a nutrição adequada do nutriente durante o ciclo da cultura.

#### **6.3.1.2. Índice de área foliar (IAF)**

As doses de inoculante (fator principal) incrementou o IAF de forma linear crescente com equação  $\hat{Y} = 2,534500 + 0,001784X$  e  $R^2$  de 0,84, cujo aumento foi de 0,002 a cada unidade de inoculante adicionada via tratamento de sementes (Figura 9). Dessa forma, a máxima dose estudada proporcionou um IAF estimado de 2,89.

A fixação biológica de nitrogênio pelas bactérias diazotróficas e provavelmente o bom desenvolvimento do sistema radicular (OKON; LABANDERA-GONZALES, 1994; OKON; VANDERLEYDEN, 1997) proporcionado pelas mesmas permitiram respostas significativas no IAF, como verificado na Safra de “Verão”. Contudo, devido às condições climáticas serem adversas nesse período de cultivo (LIMA et al., 2009), foi possível observar a redução do IAF em relação à safra antecessora.



**Figura 6.** Índice de área foliar em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. Média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura.

Egamberdiyeva (2007) ressalta em seu trabalho que as bactérias diazotróficas possuem mecanismos que estimulam o crescimento da planta, afetando diretamente o IAF, como a fixação de N, produção de substâncias promotoras de crescimento (fitormônios) e supressão de doenças causadas por microrganismos fitopatogênicos.

A aplicação de N na ocasião da semeadura incrementou significativamente o IAF do milho doce (Tabela 12), na ordem de 13,8 % em relação ao tratamento que não recebeu o fertilizante nitrogenado.

**Tabela 12.** Índice de área foliar (IAF) desdobrado dentro das doses de N aplicadas na semeadura, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas em cobertura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )	IAF
0,0	2,50 b
30,0	2,92 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

Da mesma forma, quando o N foi aplicado no estágio V<sub>4</sub> da cultura houve um aumento do IAF (Tabela 13), com acréscimo de 0,53 ou 17,8 % em relação à testemunha (ausência da adubação nitrogenada em cobertura).

**Tabela 13.** Índice de área foliar (IAF) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de

inoculante e das duas doses de N da semeadura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )	IAF
0,0	2,45 b
110,0	2,98 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

Veloso et al. (2009) trabalhando com adubação nitrogenada no milho comum num GLEISSOLO Eutrófico encontraram efeitos positivos na variável IAF no estágio farináceo (R<sub>4</sub>) da cultura, sendo o modelo que melhor se ajustou foi o linear, com incremento variando de 2,47 a 3,43. Os mesmos autores salientam que a área foliar depende do número de folhas e do tamanho das folhas e, conseqüentemente, do seu estágio de desenvolvimento. Os valores de IAF estão próximos aos encontrados no presente estudo.

Além dos fatores citados anteriormente, Fancelli e Dourado Neto (2000) afirmam que o IAF depende da fertilidade do solo, das condições climáticas, do genótipo e do espaçamento utilizado.

### 6.3.2. Teor de nitrogênio na folha (TNF)

O TNF foi influenciado ( $P \leq 0,05$ ) pelas doses de N em cobertura, porém, da mesma forma do que foi verificado na Safra de “Verão” não apresentou ajuste significativo da regressão para as doses de inoculante. Esse fato pode ser explicado devido à transferência de N ocorrer lentamente em cereais (DOMMELEN et al., 1998), o que não é verificado em leguminosas, como na cultura da soja inoculada com a bactéria do gênero *Bradrhizobium* (HUNGRIA et al., 1994; ZILLI; CAMPO; HUNGRIA, 2010). Por sua vez, as doses de N aplicadas na semeadura não aumentou de forma significativa o TNF do milho doce.

A adubação nitrogenada em cobertura aumentou o TNF em 4,99 g kg<sup>-1</sup> ou 17,3 % comparado à testemunha (ausência de N). Souza et al. (2011) também encontraram efeitos positivos no milho comum quando foi aplicado N em cobertura em duas safras agrícolas, no período de “Outono-Inverno”. Tais resultados concordam com os encontrados por Casagrande e Fornasieri Filho (2002) e Mar et al. (2003).

**Tabela 14.** Teor de nitrogênio na folha índice (TNF) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N da semeadura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )	TNF (g kg <sup>-1</sup> )
0,0	23,36 b
110,0	28,35 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

Desse modo, a adubação nitrogenada em cobertura influenciou positivamente o TNF e o IAF na cultura do milho doce, em ambas as safras agrícolas.

O TNF além de ser influenciado pela adubação nitrogenada também depende do genótipo a ser utilizado, pois cada um tem maior ou menor eficiência no aproveitamento do N disponível no solo, o que pode contribuir no rendimento de grãos (CASAGRANDE; FORNASIERI FILHO, 2002). Dourado Neto e Fancelli (1997) ressaltam que a incorporação do fertilizante nitrogenado é primordial, particularmente no SPD quando a fonte for à ureia, com índice de aproveitamento de 70 a 90 % do N em decorrência dessa prática.

### 6.3.3. Avaliações fitotécnicas dos componentes de produção

Da mesma forma que se verificou na Safra de “Verão”, os tratamentos não apresentaram efeitos significativos ( $P \leq 0,05$ ) para as variáveis respostas NFE e NGF. Por sua vez, a adubação nitrogenada em cobertura influenciou tanto a PECD ( $P \leq 0,05$ ) quanto a PED ( $P \leq 0,01$ ) e houve ajuste significativo da regressão ( $P \leq 0,05$ ) para a PED. Por fim, a aplicação de N na semeadura aumentou significativamente ( $P \leq 0,05$ ) a PED.

#### 6.3.3.1. Número de fileiras de grãos por espiga (NFE)

O NFE não foi influenciado pelas doses de inoculante e pela adubação nitrogenada (Tabela 3A), análogo ao verificado na Safra de “Verão” (item 6.2.3.1). Este fato pode ser atribuído à característica genética do híbrido utilizado (SCHREIBER; STANBERRY; TUCKER, 1988), pela baixa variação no NFE entre os tratamentos analisados. Cruz et al. (2008) trabalhando com cinco híbridos comerciais de milho comum em Alagoas num LATOSSOLO AMARELO Coeso distrófico, observaram diferenças significativas no NGF entre os materiais estudados. Esses autores afirmam que tais diferenças provieram da influência genética de cada cultivar.

Yazdani et al. (2009) trabalhando com bactérias promotoras de crescimento no milho comum, dentre elas o *A. brasilense*, verificaram que o uso desses microrganismos não

aumentou o número de fileira de grãos por espiga em relação à adubação convencional (NPK). Por outro lado, mesmo reduzindo as doses de N e P em 50 % juntamente com as bactérias diazotróficas o NFE não diferiu estatisticamente da dose cheia, colaborando, neste caso, na economia de fertilizantes.

### **6.3.3.2. Número de grãos por fileira (NGF)**

Conforme os resultados da Tabela 3A, não houve ajuste significativo da regressão e também não foi observado influência da adubação nitrogenada no NGF. Trabalho realizado por Gholami, Shahsavani e Nezarat (2009) em milho comum mostrou que a inoculação com *A. brasilense* também não incrementou significativamente no número de grãos por espiga (NGE). Ashrafi e Seiedi (2011) não observaram diferença significativa no NGF no milho comum inoculado com *A. lipoferum* (estirpe OF) e *Azobacteria choococum* (estirpe 5) .

Por outro lado, efeitos positivos foram encontrados por Saikia et al. (2007) no milho comum, quando as sementes foram inoculadas com *A. brasilense*, com incremento médio de 24,6 % no NGE em relação ao tratamento que não foi inoculado. Sharifi, Khavazi e Gholipouri (2011) encontraram diferenças significativas no NGF (+5,2 %) e no NGE (+4,0 %) em relação à testemunha (não inoculado) nos três híbridos avaliados. Os mesmos autores observaram também que os três genótipos responderam de forma diferenciada no NGE quando foram inoculados com *A. brasilense*. Estes resultados contradizem aos encontrados no presente estudo.

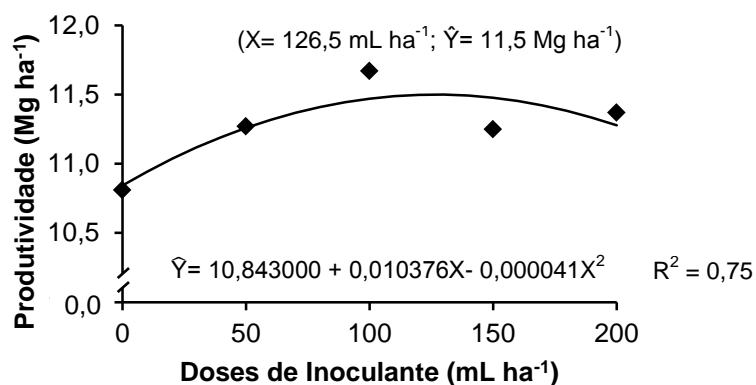
A ocorrência de temperaturas baixas durante o período da condução do experimento, provavelmente afetou a absorção de N devido à redução da fluidez da membrana plasmática e a da atividade da H<sup>+</sup>-ATPase ligada a porção interna da membrana (TAIZ; ZEIGER, 2013) e a fixação biológica de N pelas bactérias diazotróficas (BALDANI; BALDANI, 2005), restringindo, portanto, a expressão do milho doce em relação ao NGF. Souza et al. (2011) afirmam que os componentes de produção (NFE e NGF) são influenciados pelas diferentes condições de solo e de ambiente nas diferentes áreas experimentais, além da variabilidade genotípica entre híbridos disponíveis.

Portanto, a definição dos componentes de produção é determinada pelas condições de desenvolvimento da planta de milho em cada estágio de diferenciação (BORTOLINI et al., 2001).

### 6.3.3.3. Produtividade de espigas despalhadas (PED)

Ao contrário do que ocorreu na Safra de “Verão”, as médias de PED se ajustaram significativamente à regressão polinomial (fator principal) (Figura 7), cujo modelo que melhor representou foi o quadrático com equação de  $\hat{Y} = 10,843000 + 0,010376X - 0,000041X^2$  e  $R^2$  de 0,75. Diante disso, o ponto de máximo ( $11,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) foi proporcionado pela dose de  $126,5 \text{ mL ha}^{-1}$ , com incremento de  $0,66 \text{ Mg ha}^{-1}$  ou  $5,7 \%$  em relação ao não inoculado. Por sua vez, a PED também respondeu positivamente a adubação nitrogenada.

Fulchieri e Friori (1994), Yazdani et al. (2009) e Kappes et al. (2013) encontraram efeitos positivos na produtividade de grãos no milho comum inoculado com *A. brasilense*. Estudo realizado por Kappes et al. (2013) mostrou que a inoculação incrementou em  $9,50 \text{ Mg ha}^{-1}$  a produtividade de grãos. Por outro lado, Stancheva et al. (1992) não observaram influência do *A. brasilense* na produtividade em associação com a adubação nitrogenada, em duas safras agrícolas.



**Figura 7.** Produtividade de espigas despalhadas em função das doses de inoculante aplicadas via tratamento de sementes. Média das duas doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná.

Conforme Okon e Kapulnik (1986), a associação das plantas com as bactérias diazotróficas (gênero *Azospirillum*) promove melhor desenvolvimento do sistema radicular que, por sua vez, aumenta a absorção de nutrientes minerais (N, P, K e micronutrientes) e água do solo, resultando no acúmulo de massa seca e de nutrientes minerais nos estádios vegetativos e reprodutivos da planta, conseqüentemente, incrementando a produtividade de grãos ou espigas.

Trabalho revisado por Okon e Labandera-Gonzales (1994) mostrou que nos vinte anos de estudos com as bactérias do gênero *Azospirillum*, estas tem a capacidade de incrementar a produtividade em diferentes solos e climas, usando diferentes estirpes de *A. brasilense* e *A. lipoferum* e espécies de plantas. Sendo que, 60 a 70 % dos trabalhos a campo tiveram diferenças estatísticas, com aumento de 5 a 30 % na produtividade. Em outros cereais, como o trigo, também verificaram aumento de produtividade com o uso de *A. brasilense* (KAPULNIK; OKON; HENIS, 1987; PICCININ et al., 2011).

A adubação nitrogenada na semeadura incrementou em 0,44 Mg ha<sup>-1</sup> ou 3,8 % a PED (Tabela 15), demonstrando a importância do nutriente na fase inicial da cultura. Apesar de as exigências serem pequenas nos estádios iniciais de crescimento, é sabido que altas concentrações de N na zona radicular são benéficas para promover rápido crescimento inicial das plantas e o aumento do potencial produtivo (MENGEL; BARBER, 1974; VARVEL; SCHPERS; FRANCIS, 1997). Portanto, a deficiência de N nos estádios iniciais da cultura afeta negativamente o número de espiguetas nos primórdios da espiga (SCHREIBER; STANBERRY; TUCKER, 1988).

**Tabela 15.** Produtividade de espigas despalhadas (PED) desdobrado dentro das doses de N aplicadas na semeadura, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas em cobertura no estádio V<sub>4</sub> na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )	PED (Mg ha <sup>-1</sup> )
0,0	11,05 b
30,0	11,49 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si (P ≤ 0,05), pelo teste F.

A adubação de N realizada no estádio V<sub>4</sub> da cultura afetou positivamente a PED (Tabela 16), como verificado também na Safra de “Verão”, com incremento de 0,72 Mg ha<sup>-1</sup> ou 6,2 %. Souza et al. (2011) verificaram significativo incremento em produtividade de grãos no milho cultivado na “Safrinha” até a dose de 150 kg ha<sup>-1</sup> de N, em média, independente da época (semeadura ou cobertura no estádio V<sub>6</sub>) de aplicação e fonte de N (sulfato de amônio ou uréia).

**Tabela 16.** Produtividade de espigas despalhadas (PED) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estádio V<sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N da semeadura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>



Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )	PED (Mg ha <sup>-1</sup> )
0,0	10,91 b
110,0	11,63 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P \leq 0,01$ ), pelo teste F.

Investigação feita por Amado, Mielniczuk e Aita (2002), evidenciou que o N dificilmente será suprido somente pelo solo, havendo necessidade de usar outras fontes alternativas para suplementação deste nutriente. Ainda destacam a utilização isolada ou combinada, de adubos minerais, leguminosas e esterco.

#### 6.3.3.4. Produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD)

As médias da PECD não se ajustaram de forma significativa à regressão polinomial, porém, as doses de N aplicadas no estágio V<sub>4</sub> da cultura afetaram positivamente a PECD. Da mesma forma que foi verificada na Safra de “Verão” a adubação nitrogenada na semeadura e a interação entre os níveis dos fatores semeadura e cobertura não influenciaram significativamente a PECD.

As condições climáticas (Figura 1) durante a condução do experimento de “Outono-Inverno” favoreceram o aumento da incidência de fitopatógenos nos grãos do milho doce, como o *Fusarium* spp., causador da podridão-da-espiga (CASELA et al., 2006), principalmente quando o N foi aplicado nas duas épocas. Marques et al. (2009) observaram alta incidência de *Fusarium* spp. no período de “Safrinha” em três híbridos comerciais de milho, principalmente nos grãos com alto teor de umidade. Neste contexto, a produção de espigas de qualidade foi afetada, comprometendo, provavelmente, a expressão das bactérias diazotróficas na PECD.

De acordo com a Tabela 17, a dose de 110,0 kg ha<sup>-1</sup> incrementou em produtividade na ordem de 0,55 Mg ha<sup>-1</sup> ou 7,0 % em relação ao tratamento que não recebeu o N. Esses resultados são semelhantes aos encontrados na PED, com aumento relativo de 6,2 %.

**Tabela 17.** Produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD) desdobrado dentro das doses de N aplicadas em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura do milho doce, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na semeadura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )	PECD (Mg ha <sup>-1</sup> )
-----------------------------------	-----------------------------

(Continuação)

0,0	7,22 b
110,0	7,77 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

A aparência e a sanidade do produto destinado ao consumo humano são de fundamental importância para a sua comercialização. Além disso, a cor dos grãos e a composição química dos grãos do milho verde exercem grande influência na aceitação pelo consumidor (CANIATO et al., 2007; ALBUQUERQUE et al., 2008).

#### **6.3.4. Composição química dos grãos**

O milho doce cultivado no período de “Outono-Inverno” respondeu positivamente a adubação nitrogenada na semeadura para a variável resposta teor de proteína nos grãos, porém, não foram observados efeitos significativos relacionados às doses de inoculante. Em contrapartida, o teor de AT nos grãos de milho doce foi influenciado positivamente pelas doses de inoculante em associação com adubação nitrogenada (Tabela 3A).

##### **6.3.4.1. Teor de Proteína (TP)**

Conforme o resultado da análise de variância (Tabela 3A) para o teor de TP nos grãos, a adubação nitrogenada realizada na semeadura aumentou de forma significativa a qualidade química na Safra de “Outono-Inverno”. Por outro lado, apesar da interação I x NS na análise de variância geral tenha-se mostrado significativo ( $P \leq 0,05$ ), após o desdobramento, não foi observado significância nas equações e nos coeficientes da regressão ( $P \leq 0,05$ ) pelos testes F e t, respectivamente. Isso pode ser explicado pelo fato de que o F (médio) dos tratamentos encontrado no resultado da análise de variância geral mostra que pode existir uma tendência de resposta, porém, no desdobramento, em algumas situações, não é possível estabelecer uma relação funcional entre o tratamento e a variável resposta em estudo pela não significância do teste F da análise de variância e do teste t de Student (1908) dos coeficientes da regressão, como é o caso do teor de proteína nos grãos verificado nessa safra.

Ao contrário do que foi verificada na Safra de “Verão” (Tabela 2A), a inoculação não influenciou no TP nos grãos de milho doce (Tabela 3A). Porém, quando o N foi aplicado na semeadura o incremento foi de 0,63 %. Apesar das exigências em N serem pequenas nos

estádios iniciais da cultura, a adubação no momento da semeadura possibilitou o incremento tanto na qualidade química dos grãos quanto na produtividade de espigas despalhadas (Tabela 18).

**Tabela 18.** Teor de proteína (TP) nos grãos de milho doce desdobrado dentro das doses de N aplicadas na semeadura, na média das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas em cobertura no estágio V<sub>4</sub> na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )	TP (%)
0,0	11,55 b
30,0	12,18 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ( $P \leq 0,05$ ), pelo teste F.

A eficiência de aproveitamento do N do fertilizante nitrogenado aplicado na semeadura foi encontrada por Casagrande e Fornasieri Filho (2002) no período de “Outono-Inverno”. Esses autores não observaram diferença significativa entre as épocas de aplicação de N (na semeadura e em cobertura) sobre o teor de N foliar no milho.

Vale ressaltar que a adubação nitrogenada na semeadura proporcionou o aumento da taxa de mineralização do N dos resíduos vegetais (AMADO; MIELNICZUK, 2000) que, por sua vez, disponibilizou quantidades significativas do nutriente durante o ciclo da cultura, permitindo efeitos benéficos verificados no presente estudo.

#### 6.3.4.2. Teor de Açúcares totais (AT)

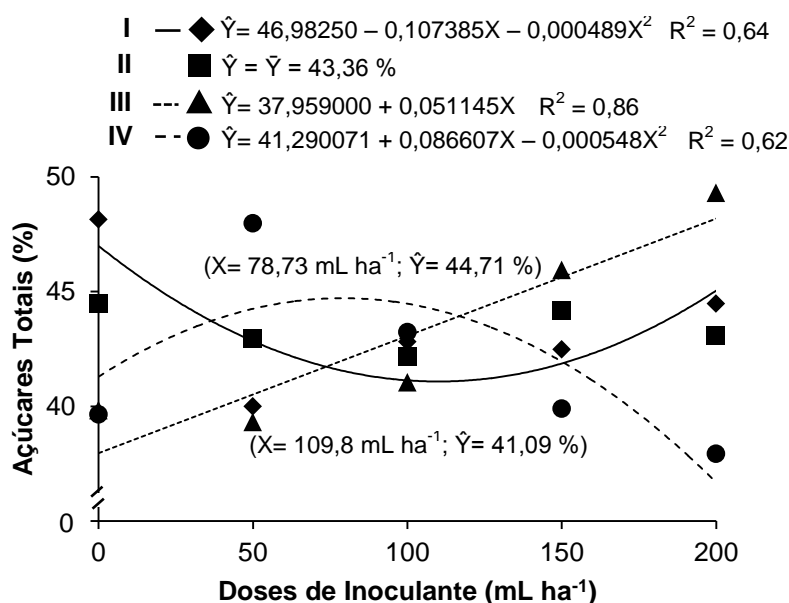
Os teores de açúcares totais nos grãos de milho doce variaram conforme as doses de inoculante em associação com a adubação nitrogenada. Neste contexto, houve interação de segunda ordem, ou seja, as doses de inoculante interagiram com as doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura. A interação I x NS (30,0 kg ha<sup>-1</sup>) x NC (0,0 kg ha<sup>-1</sup>) não se ajustou de forma significativa na regressão. Constatou-se também maior acúmulo de AT nos grãos em relação à Safra de “Verão”.

As doses de inoculante com ausência das adubações nitrogenadas proporcionaram um modelo quadrático (Figura 8), com ponto de mínimo de 41,09 % correspondendo a dose de 109,8 mL ha<sup>-1</sup>. A partir desse ponto houve acréscimo no teor de AT nos grãos.

A aplicação de N em cobertura associada às doses de inoculante possibilitou um ajuste linear crescente no teor de AT (Figura 8), sendo que, a cada unidade de inoculante

adicionado via tratamento de sementes incrementou em 0,05 %. Tal resultado sugere que na ausência de N no momento da semeadura, provavelmente possibilitou que grande parte do N fosse direcionado para síntese de açúcares nos grãos.

Por sua vez, a aplicação de N na semeadura (30,0 kg ha<sup>-1</sup>) e em cobertura (110,0 kg ha<sup>-1</sup>) combinadas com a inoculação teve um comportamento quadrático (Figura 8), com ponto de máximo de 44,71 % obtido pela dose de 78,73 mL ha<sup>-1</sup>. À medida que aumenta a concentração de N na planta, por meio das adubações nitrogenadas, o conteúdo de carboidrato nos grãos tende a diminuir em detrimento de aminoácidos e proteínas (DUNCAN, 1975; SANDER; ALLAWAY; OLSEN, 1987).



**Figura 8.** Teor de açúcares totais nos grãos em função das doses de inoculante em associação com as doses de N aplicadas na semeadura e em cobertura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná. I- Ausência da adubação nitrogenada; II- Adubação nitrogenada na semeadura; III- Adubação nitrogenada em cobertura; e IV- Adubação nitrogenada na semeadura e em cobertura.

A aplicação de N em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura diminuiu em 8,31 % o AT nos grãos de milho doce, conforme ilustrado na Tabela 19. Como comentado anteriormente, o N do fertilizante pode ter sido direcionado de forma significativa para síntese de aminoácidos e proteínas.

**Tabela 19.** Teor de açúcares totais nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N em cobertura, em função das doses de N aplicadas na semeadura dentro de cada dose de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste

do Paraná<sup>1</sup>

Doses de inoculante (mL ha <sup>-1</sup> )	N na semente (kg ha <sup>-1</sup> )	N em cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	
		0,0	110,0
0	0,0	48,13 a	39,82 b
0	30,0	44,46 a	39,64 a
50	0,0	39,99 a	39,30 a
50	30,0	42,93 a	47,97 a
100	0,0	42,81 a	41,03 a
100	30,0	42,16 a	43,22 a
150	0,0	42,47 a	42,93 a
150	30,0	44,17 a	39,89 a
200	0,0	44,46 a	49,29 a
200	30,0	43,06 a	37,92 a

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas na linha ( $P \leq 0,05$ ) diferem entre si, pelo teste F.

Por sua vez, a aplicação de 50 mL ha<sup>-1</sup> em combinação com 30,0 kg ha<sup>-1</sup> e 110,0 kg ha<sup>-1</sup> de N aplicadas na ocasião da semente e em cobertura, respectivamente, foi estatisticamente superior no que diz respeito ao AT (8,67 %). Por outro lado, nas doses de 150 e 200 mL ha<sup>-1</sup> houve um decréscimo no AT de 6,04 % e 11,37 %, respectivamente, quando foi aplicado N nas duas épocas (Tabela 20).

**Tabela 20.** Teor de açúcares totais nos grãos de milho doce desdobrado dentro dos níveis do fator N na semente, em função das doses de N aplicadas em cobertura dentro de cada dose de inoculante na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná<sup>1</sup>

Doses de inoculante (mL ha <sup>-1</sup> )	N em cobertura (kg ha <sup>-1</sup> )	N na semente (kg ha <sup>-1</sup> )	
		0,0	30,0
0	0,0	48,13 a	44,46 a
0	110,0	39,82 a	39,64 a
50	0,0	39,99 a	42,93 a
50	110,0	39,30 b	47,97 a
100	0,0	42,81 a	42,16 a
100	110,0	41,03 a	43,22 a
150	0,0	42,47 a	44,17 a
150	110,0	45,93 a	39,89 b
200	0,0	44,46 a	43,06 a
200	110,0	49,29 a	37,92 b

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas na linha ( $P \leq 0,05$ ) diferem entre si, pelo teste F.

De acordo com Caniato et al. (2007) é desejável que a colheita seja realizada quando grande parte do amido não tenha sido acumulado, visto que o sabor adocicado característico do produto colhido seja devido ao acúmulo de açúcares livres nos grãos. Creech (1968) afirma que os açúcares totais aumentam até o 15º dia após a polinização e posteriormente diminuem durante o amadurecimento, devido à síntese de amido. Sugere que o atraso no amadurecimento dos grãos no milho doce em decorrência das condições climáticas predominantes (Figura 1) tenha favorecido o acúmulo de AT e retardado a síntese de amido até o momento da colheita. Além disso, a colheita das espigas na época correta, no estágio R<sub>3</sub> da cultura (RITCHIE, HANWAY; BENSON, 1993), proporcionou melhor qualidade química dos grãos, uma vez que a umidade está diretamente relacionada com a concentração de açúcares nesse órgão (OLSEN; GILES; JORDAN, 1990).

### 6.3.5. Análise econômica

Conforme foi verificado no item 6.3.3.4, a inoculação não incrementou de forma significativa a PECD. No entanto, a adubação nitrogenada ocasionou efeitos positivos nessa variável resposta. O resumo do resultado da análise econômica está descrita na Tabela 21.

**Tabela 21.** Resumo da análise econômica do milho doce em função das doses de nitrogênio aplicadas em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná

Doses de N	Produtividade <sup>1</sup>	Receita <sup>2</sup>	Custo <sup>3</sup>	Retorno <sup>4</sup>	T.R. <sup>5</sup>
kg ha <sup>-1</sup>	Mg ha <sup>-1</sup>	R\$ ha <sup>-1</sup>	R\$ ha <sup>-1</sup>	R\$	%
0,0	7,22	12.057,40	1.155,00	10.902,00	-
110,0	7,77	12.975,90	1.595,00	11.380,90	4,2

<sup>1</sup>Médias das cinco doses de inoculante e das duas doses de N aplicadas na ocasião da semeadura.

<sup>2</sup>Receita bruta. Preço médio das espigas de milho verde: R\$ 1,67 kg<sup>-1</sup>. Levantamento realizado na feira dos produtores rurais de Maringá, Paraná.

<sup>3</sup>Custo total de produção, considerando o preço da ureia (R\$ 4,00 kg<sup>-1</sup> de N) e o preço das sementes de milho doce (R\$ 420,00). Levantamento realizado na Revenda Agrícola de Maringá (PR) e de Londrina (PR).

<sup>4</sup>Retorno econômico, calculado pela diferença entre a receita bruta e o custo de produção.

<sup>5</sup>Taxa de retorno, em função dos valores do retorno econômico.

As informações contidas na Tabela 21 mostram que nas condições em que o milho doce foi cultivado, possibilitou uma remuneração financeira na ordem de R\$ 478,90 ou 4,2 % em relação ao tratamento que não recebeu o nutriente no estágio V<sub>4</sub> da cultura.

De acordo com Freire et al. (2010) no momento da recomendação de adubação nitrogenada na cultura do milho, é fundamental considerar o lado econômico, devendo-se

levar em conta os preços do N e das espigas de milho. Esses mesmos autores sugerem que a cada alteração nos preços do fertilizante e do produto colhido, novas doses de N devem ser calculadas.

Sangoi et al. (2003b) ressaltam que independente do ambiente onde seja cultivado, é fundamental adotar uma política agrícola coerente para melhorar o manejo na cultura do milho, que remunere de forma adequada o produto colhido. Desse modo, beneficiando economicamente o produtor rural.

## 7. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram conduzidos os dois experimentos, conclui-se que:

- i) A inoculação com *Azospirillum brasilense* (estirpes AbV5 e AbV6), via tratamento de sementes, influenciou positivamente as variáveis respostas índice de área foliar, produtividade de espigas comerciais despalhadas, no teor de proteína e de açúcares totais nos grãos de milho doce na Safra de “Verão” de 2012/2013;
- ii) Na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, a inoculação incrementou o índice de área foliar, a produtividade de espigas despalhadas, na ordem de 0,66 Mg ha<sup>-1</sup>, e o teor de açúcares totais nos grãos;
- iii) O uso da inoculação permitiu um retorno financeiro na ordem de R\$ 1.576,10 ha<sup>-1</sup> ou 12,5 % com base na dose máxima estudada na Safra de “Verão” de 2012/2013;
- iv) A adubação nitrogenada em cobertura no estágio V<sub>4</sub> da cultura possibilitou um retorno financeiro de R\$ 478,90 ha<sup>-1</sup> ou 4,2 % na Safra de “Outono-Inverno” de 2013;
- v) As respostas à inoculação com bactérias diazotróficas podem variar de acordo com o ano agrícola, visto que esses microrganismos dependem diretamente das condições ambientais e climáticas para se desenvolverem.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AITA, C. et al. Plantas de cobertura de solo como fonte de nitrogênio ao milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.157-165, 2001.
- ALBRECHT, S.L. et al. Nitrogen fixation by corn-*Azospirillum* associations in a temperate climate. **Crop Science**, v.21, p.301-306, 1981.
- ALBUQUERQUE, C.J.B. et al. Desempenho de híbridos experimentais e comerciais de milho para produção de milho verde. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.3, p.768-775, 2008.
- ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. **Modern corn production**. 2.ed. Champaign: A & L Publication, 1982. 371p.
- ALVES, V.M.C.; VASCONCELLOS, C.A.; FREIRE, F.M.; PITTA, G.V.E.; FRAÇA, G.E.; RODRIGUES FILHO, A.; ARAÚJO, J.M.; VEIRA, J.R.; LOUREIRO, J.E. Milho. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V., V.H. (Ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. Viçosa, 1999. p.314-316.
- AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; FERNANDES, S.B.V. Leguminosas e adubação mineral como fontes de nitrogênio para o milho em sistemas de preparo do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.179-189, 2000.
- AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. 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. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, n.2, p.241-248, 2002.
- ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 9. ed. São Paulo: Andrei Editora, 2013, 1616p.
- ARAÚJO, L.A.N.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.771-777, 2004.
- ARAÚJO, S.C. Fixação biológica do nitrogênio em milho: estado atual e perspectivas. In: FACELLI, A.L (Editor). **Milho: Nutrição e Adubação**. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, p.92-99, 2008.
- ARGENTA, G. et al. manejo do nitrogênio no milho em semeadura direta em sucessão a espécie de cobertura de solo no inverno e em dois locais. I - efeito sobre a absorção de N. **Ciência Rural**, v.29, n.4, p.577-586, 1999.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. Adubação nitrogenada em milho implantado em semeadura direta após aveia preta. **Ciência Rural**, v.29, p.745-754, 1999.
- ASHRAFI, V.; SEIEDI, M.N. Influence of different plant densities and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield attributes of corn (*Zea mays* L.). **Recent Research in Science and Technology**, v.3, n.1, p.63-66, 2011.

BALDANI, V.L.D.; DÖBEREINER, J. Host-plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp. **Soil Biology & Biochemistry**, 12: 433-439, 1980.

BALDANI, J.I. et al. Emended description of *Herbaspirillum*; a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.46, p.802–810, 1996.

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

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal: Funep, 4 ed., 2006. 237p.

BARAK, R.; NUR, I.; OKON, Y. Detection of chemotaxis in *Azospirillum brasilense*. **Journal of Applied Bacteriology**, v.54, p.399-403, 1983.

BARBIERI, V.H.B. et al. Produtividade e rendimento industrial de híbridos de milho doce em função de espaçamentos e populações de plantas. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.3, p.826-830, 2005.

BASHAN, Y. Alginate beads as synthetic inoculant carriers for slow release of bacteria that affect plant growth. **Applied and Environmental Microbiology**, v.51, n.5, p.1089-1098, 1986.

BASHAN, Y.; LEVANONY, H.; KLEIN, E. Evidence for a weak active external adsorption of *Azospirillum brasilense* Cd to wheat roots. **Journal of General Microbiology**, v.132, p.3069-3073, 1986.

BASHAN, Y. et al. Nonspecific responses in plant growth, yield, and root colonization of noncereal crop plants to inoculation with *Azospirillum brasilense* Cd. **Canadian Journal of Botany**, v.67, p.1317-1324, 1989.

BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Canadian Journal of Microbiology**, v.36, p.591-608, 1990.

BASHAN, Y.; HERNANDEZ, J.P. Alginate microbeads as inoculant carriers for plant growth-promoting bacteria. **Biology and Fertility of Soils**, v.35, p.359-368, 2002.

BASSO, C.J.; CERETTA, C.A. Manejo do nitrogênio no milho em sucessão a plantas de cobertura de solo, sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.24, n.4, p.905-915, 2000.

BERG, R.H.; VASIL, V.; VASIL, I.K. The biology of *Azospirillum*-sugarcane association. II. Ultrastructure. **Protoplasma**, v.101, p.143-163, 1979.

BERGAMASCHI, H. et al. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 831-839, set. 2004.

BIANCO, R. Determinação do nível crítico de interferência da lagarta do “cartucho” (*Spodoptera frugiperda*) num híbrido comercial de milho. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MILHO E SORGO, 13., 1980. Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 1980. p.143.

BINFORD, G.D.; BLACKMER, A.M. CERRATO, M.E. Nitrogen concentration of young corn plants as an indicator of nitrogen availability. **Agronomy Journal**, v.84, n.2, p.219-223, 1992.

BLACKMER, T.M.; SCHEPERS, J.S. Techniques for monitoring crop nitrogen status in corn.

**Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.25, n.9/10, p.1791-1800, 1994.

BORIN, A.L.D.C.; LANA, R.M.Q.; PEREIRA, H.S. Absorção, acúmulo e exportação de macronutrientes no milho doce cultivado em condições de campo. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, p.1591-1597, 2010.

BORTOLINI, C.G. et al. Rendimento de grãos de milho cultivado após aveia-preta em resposta a adubação nitrogenada e regime hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.9, p.1101-1106, 2001.

BOYER, C.D.; SHANNON, J.C. The use of endosperm genes for sweet corn improvement. **Plant Breeding Reviews**, v.1, p.139-161, 1983.

BOUWEESTER, R.J.B.; VLEK, P.L.G; STUMPE, J.M. Effect of environmental factors on ammonia volatilization from a urea-fertilized soil. **Soil Science Society of America Journal**, v.49, n.2, p.376-381, 1985.

BRACCINI, A.L. et al. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of biorregulators in maize. **Revista Caatinga**, v.25, n.2, p.58-64, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos/Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. cap. IV. p.116-141 (Série A: Normas Técnicas e Manuais Técnicos).

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C.M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Revista Ciência Rural**, v.30, n.2, p.365-372, 2000.

BUENO, L.G. et al. Controle genético do teor proteico nos grãos e de caracteres agronômicos em milho cultivado com diferentes níveis de adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.6, p.590-598, 2009.

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

CANIATO, F.F. et al. Quantificação de açúcares solúveis totais, açúcares redutores e amido nos grãos verdes de cultivares de milho na colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.6, p.1893-1896, 2007.

CANTARELLA, H.; MONTEZANO, Z. F. Nitrogênio e ambiente. In: LUÍS, I. P.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. (Coords). **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes**. Piracicaba: IPNI - Brasil, v.2, p.16-23, 2010.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; ZAMBOLIM, L. Doenças de milho causadas por fungos do gênero *Stenocarpella*. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, n.5, p.427-439, 2006.

CASAGRANDE, J.R.R.; FORNASIERI FILHO, D. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.1, p.33-40, 2002.

CASELA, C.R. et al. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006, 14p. (Circular Técnica, 83).

CAVALLET, L.E. et al. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p.129-132, 2000.

CERETTA, C.A. Manejo da adubação nitrogenada na sucessão aveia/milho, no sistema de plantio direto. In: FRIES, M.R.; DALMOLIN, R.S.D. **Atualização em recomendação de adubação e calagem: ênfase em plantio direto**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1997. p.112-124.

CERETTA, C.A.; FRIES, M.R. **Adubação nitrogenada no sistema plantio direto**. In: NUERMBERG, N.J. (Coord.). **Plantio direto: Conceitos, fundamentos e práticas culturais**. Sociedade Brasileira de Ciência do solo, Núcleo Regional Sul, 1997. Cap. 7, p.111-120.

CERETTA, C.A. et al. Manejo da adubação nitrogenada na sucessão aveia preta/milho, no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.163-171, 2002.

CERRATO, M.E.; BLACKMER, A.M. Relationships between leaf nitrogen concentrations and the nitrogen status of of corn. **Journal of Production Agriculture**, v.4, n.3, p.525-531, 1991.

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E.; BAHIA FILHO, A.F.C. Nutrição e adubação do milho forrageiro. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. **Milho para silagem: tecnologias, sistemas e custo de produção**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1991. p. 29-73. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica,14).

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação. 2 ed. aum. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 71, p. 1-9, set. 1995. Arquivo do Agrônomo, Piracicaba, n.2, set. 1995. Encarte.

COELHO, A. M. **Nutrição e adubação do milho**. Circular Técnica 78 (Embrapa), Sete Lagoas, 2006, p.02.

CORRÊA, L.A. Plantio e tratos culturais. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **A cultura do milho doce**. Brasília, 1992. p.15-16.

COSTACURTA, A.; VANDERLEYDEN, J. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. **Critical Reviews in Microbiology**, v.21, p.1-18, 1995.

CREECH, R.G. Carbohydrate synthesis in maize. In: NORMAN, A.G. **Advances in Agronomy**. New York: Academic, 1968. p. 275-289.

CRUZ, S.C.S. et al. Adubação nitrogenada para o milho cultivado em sistema plantio direto, no estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.1, p.62-68, 2008.

DA ROS; C.O.; AITA, C. Efeito de espécies de inverno na cobertura do solo e fornecimento de nitrogênio ao milho em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.20, p.135-140, 1996.

DA ROS, C.O. et al. Disponibilidade de nitrogênio e produtividade de milho e trigo com diferentes métodos de adubação nitrogenada no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.799-804, 2003.

DARTORA, J., et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum* brasilense e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n.10, p.1023-1029, 2013.

DAVIS, F.M.; NG, S.; WILLIAMS, W.P. **Visual rating scales for screening whorlstage corn resistance to fall armyworm**. Mississippi: Mississippi State University, 1992. 9p.

DAY, J.M.; DÖBEREINER, J. Physiological aspects of N<sub>2</sub> fixation by a *Spirillum* from Digitaria roots. **Soil Biology & Biochemistry**, v.8, p.45-50, 1976.

DEKHIL, S.B. et al. Transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subs. *Largomobilis* to the genus *Azospirillum* as *Azospirillum lagomobile* comb. nov., and elevation of *Conglomeromonas largomobilis* subs. *Parooensis* to the new type species of *Conglomeromonas*, *Conglomeromonas parooensis* sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, v.20, p.72-77, 1997.

DEL GALLO, M.; FENDRIK, I. The rhizosphere and *Azospirillum*. In: OKON, Y. (Ed). ***Azospirillum* Plant Associations**. Boca Raton: CRC Press, p.57-76, 1994.

DEMÉTRIO, C.S. et al. Desempenho de híbridos de milho submetidos a diferentes espaçamentos e densidade populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.12, p.1691-1697, 2008.

DE TROCH, P.; VANDERLEYDEN, J. Surface properties and motility of *Rhizobium* and *Azospirillum* in relation to plant root attachment. **Microbial Ecology**, v.32, p.149-169, 1996.

DIDONET, A.D. et al. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.2, p.401-411, 2000.

DOBBELAERE, S. et al. Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil**, v. 212, p.155-164, 1999.

DOBBELAERE, S. et al. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, p.871-879, 2001.

DÖBEREINER, J. **Fixação de nitrogênio atmosférico em gramíneas tropicais**. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 15, São Paulo: Campinas, 1976, p.593-602.

DÖBEREINER, J. History and new perspective of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis**, v.13, n.1, p.1-13, 1992.

DOMMENLEN, V.A. et al. (Methyl)ammonium transport in the nitrogen fixing bacterium *Azospirillum brasilense*. **Journal of Bacteriology**, v.180, p.2652-2659, 1998.

DOTTO, A.P. et al. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 3, p. 376-382, 2010.

DOUGLAS, S.K.; JUVIK, J.A.; SPLITTSTOESSER, W.E. Sweet corn seedling emergence and variation in kernel carbohydrate reserves. **Seed Science and Technology**, v.21, n.3, p.433-445, 1993.

DOURADO NETO, D.; FANCELLI, A.L.E. **Equações gerais para manejo da cultura do milho: tecnologia da produção de milho**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. p.171-174.

DUNCAN, W.G. Maize. In: EVANS, L.T. (Ed). **Crop Physiology: Some Case Histories**. Cambridge University Press, New York, p.23-50, 1975.

ECKERT, B. et al. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p.17-26, 2001.

EGAMBERDIYEVA, D. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. **Applied Soil Ecology**, v.36, p.184-189, 2007.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 3 ed., 2013. 353 p.

ERDAL, S. et al. Evaluation of developed standard sweet corn (*Zea mays saccharata* L.) hybrids for fresh yield, yield components and quality parameters. **Turkish Journal of Field Crops**, v.16, n.2, p.153-156, 2011.

ERNANI, P.R.; NASCIMENTO, J.A.L.; FREITAS, E.G. Aumento do rendimento de grãos e de massa verde de milho para silagem pela aplicação de nitrogênio. **Agropecuária Gaúcha**, v.2, p.201-205, 1997.

ERNSTSEN, A. et al. Endogenous indóis and the biosynthesis and metabolism of indole-3-acetic acid in cultures of *Rhizobium phaseoli*. **Planta**, v.171, p.422-428, 1987.

ERREBHI, M. et al. Potato yield response and nitrate leaching as influenced by nitrogen management. **Agronomy Journal**, v.90, n.1, p.10-15, 1998.

ESCOSTEGUY, P.A.V.; RIZZARDI, M.A.; ARGENTA, G. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do milho em duas épocas de semeadura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.71-77, 1997.

ESPINDULA, M.C. et al. Doses e formas de aplicação de nitrogênio no desenvolvimento e produção da cultura do trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, p.1404-1411, 2010.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. Ecofisiologia e fenologia. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. p.21-54.

FANCELLI, A.L. Milho. In: PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. **Boas Práticas Para Uso Eficiente de Fertilizantes**. Piracicaba: IPNI - Brasil, 2010. p.43-89.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>. Acesso em: 03 de fevereiro de 2014.

FELLIK, E.; OKON, Y. The response of maize (*Zea mays*) to *Azospirillum* inoculation in various types of soils in the field. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.12, n.5, p. 511-515, 1996.

FERRAZ, E.C. Fisiologia. In: **Cultura e adubação do milho**. São Paulo: Instituto Brasileiro de Potassa, 1966. p. 369-379.

FERREIRA, A.C.B. et al. Características agrônômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agrícola**, v.58, n.1, p.131-138, 2001.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análise e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2008.

FERREIRA, A.S. et al. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutriente addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, v.72, p.103-108, 2013.

FILGUEIRA, F.A.R. **Manual de Olericultura: cultura e comercialização de hortaliças**. São Paulo: Agronômica Ceres, ed. 2, v. 1, 1981. 338p.

FORSTHOFER, E.L. et al. Desempenho agrônômico e econômico do milho em diferentes níveis de manejo e épocas de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.399-407, 2006.

FREIRE, F.M. et al. Produtividade econômica e componentes da produção de espigas verdes de milho em função da adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, n.3, p.213-222, 2010.

FUENTES-RAMÍREZ, L.E. et al. Novel nitrogen-fixing acetic acid bacteria, *Gluconacetobacter johanna* sp. nov. and *Gluconacetobacter azotocaptans* sp. nov. associated with coffee plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p.1305–1314, 2001.

FULCHIERI, M.; FRIONI, L. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays*): Effect on yield in a field experiment in central Argentina. **Soil Biology Biochemistry**, v.26, n.7, p.921-923, 1994.

GADIOLI, J.L. et al. Temperatura do ar, rendimento de grãos de milho e caracterização fenológica associada à soma calórica. **Scientia Agrícola**, v.57, n.3, p.377-383, 2000.

GAMA E. E. G.; PARENTONI S.N. 1992. Melhoramento genético e cultivares de milho doce. In: Gama E. E. G. **A Cultura do Milho Doce**. Sete Lagoas: EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, p. 9-12 (Circular Técnica).

GHOLAMI, A., SHAHSAVANI, S.; NEZARAT, S. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. **International Journal of Biological and Life Sciences**, v.5, n.1, p.35-40,2009.

GRAHAM, P.H.; VANCE, C.P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. **Field Crops Research**, v.65, n.2-3, p.93-106, 2000.

HALL, P.G.; KRIEG, N.R. Application of the indirect immunoperoxidase stain technique to the flagella of *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.47, p.433-435, 1984.

HARPER, J.E. Nitrogen metabolism. In: BOOTE, K.J., BENNETT, J.M., SINCLAIR, T.R., et al. **Physiology and determination of crop yield**. Madison : ASA/CSSA/SSSA. Chapt.11A. p.285-302, 1994.

HARRIS, J.M. et al. Establishment of *Azospirillum* inoculant in the rhizosphere of winter wheat. **Soil Biology & Biochemistry**, v.21, p.59-64, 1989.

HEULIN, T.; GUCKERT, A.; BALANDREAU, J. Stimulation of root exudation of rice seedlings by *Azospirillum* strains: carbon budget under gnotobiotic conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v.4, p.9-14, 1987.

HILL, D.E. **Yellow and bicolor supersweet corn trials 1999-2001**. New haven: The Connecticut Agricultural Experiment Station, 2002. 15p. (Bulletin, 982).

HILTON, B.R.; FIXEN, P.E.; WOODWARD, H.J. Effects of tillage, nitrogen placement, and wheel compactation on denitrification rates in the corn cycle of a corn-oats rotation. **Journal Plant Nutrition**, v.17, p.1341-1357, 1994.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R.; PERES, J.R.R. Fixação biológica do nitrogênio na soja. In: ARAÚJO, R.S.; HUNGRIA, M. (Eds.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI, 1994. p.9-89.

HUNGRIA, M. et al. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) in South America. In: SINGH, R. P.; SHANKAR, N.; JAIWA I, P. K. (Ed.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity**. Houston: Studium Press, LLC, 2006. p.43-93.



HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v.331, p.413-425, 2010.

IAPAR. **Cartas climáticas básicas do estado do Paraná**. Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 1994. 44p.

JAGNOW, G.; HÖFLICH, G.; HOFFMANN, K.H. Inoculation of non-symbiotic rhizosphere bacteria. Possibilities of increasing and stabilizing yield. **Angew Botanik**, v.65, p.97-126, 1991.

JAIN, D.K.; BEYER, D.; RENNIE, R.J. Dinitrogen fixation (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> reduction) by bacterial strains at various temperatures. **Plant and Soil**, v.103, p.233-237, 1987.

JENKINSON, D.S.; AYANABA, A. Decomposition of carbon-14 labeled plant material under tropical conditions. **Soil Science Society of America Journal**, v.41, p.912-915, 1977.

JENKINSON, D.S.; FOX, R.H.; RAINER, J.H. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen – the so-called “priming” effect. **Journal Soil Science**, v.36, p.425-444, 1985.

KALTOFEN, H. Warum steigert Stickstoffdüngung oft den Ligningehalt von Gräsern?. **Arch. Acker-Pflanzenbau Bodenkd**, v.21, p.255-260, 1988.

KAPPES, C. et al. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.2, p.527-538, 2013.

KAPULNIK, Y. et al. Yield increases in summer cereal crops of Israeli fields inoculated with *Azospirillum*. **Experimental Agriculture**, v.17, p.179-187, 1981.

KAPULNIK, Y., OKON, Y.; HEMS, Y. Changes in root morphology of wheat caused by *Azospirillum* inoculation. **Canadian Journal of Microbiology**, v.31, p.881-887, 1985.

KAPULNIK, Y.; OKON, Y.; HENIS, Y. Yield response of spring wheat cultivars (*Triticum aestivum* and *T. turgidum*) to inoculation with *Azospirillum brasilense* under field conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v.4, p.27-35, 1987.

KEENEY, D.R. **Nitrogen management for maximum efficiency and minimum pollution**. In: STEVENSON, F.J. Nitrogen in agricultural soils. Madison, Soil Science Society of America, 1982. p.605-649.

KHAMMAS, K.M. et al. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. **Research in Microbiology**, v.140, p.679-694, 1989.

KIRCHHOF, G. et al. *Herbaspirillum frisingense* sp. nov., a new nitrogen-fixing bacterial species that occurs in C4-fiber plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p.157-168, 2001.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928. Wall-map 150cmx200cm.

KUSANO, M. et al. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.4, p.1439-1453, 2011.

KWIATKOWSKI, A. **Características agronômicas, qualidade e composição química dos grãos de híbridos simples de milho doce**. 2007. 78p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá. Maringá, Paraná. 2007.

KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Características do milho doce (*Zea mays* L.) para industrialização. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.1, n.2, p.93-103, 2007.

KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E.; SCAPIM, C.A. Agronomic traits and chemical composition of single hybrids of sweet corn. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n.4, p.531-539, 2011.

LAMBRECHT, M.; OKON, Y.; VANDE BROEK, A.; VANDERELEYDEN, J. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiology**, v.8, p.298-300, 2000.

LANA, M.C. et al. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v.59, n.3, p.399-405, 2012.

LARA CABEZAS, W.A.R.; KORNDÖRFER, G.H.; MOTTA, S.A. Volatilização de N-NH<sub>3</sub> na cultura do milho: II. Avaliação de fontes sólidas e fluidas em sistema plantio direto e convencional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.21, p.489-496, 1997.

LARA CABEZAS, W.A.R. et al. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.14, n.2, p.363-376, 2000.

LAUGHNAN, J. R. The effect of the sh<sub>2</sub> factor on carbohydrate reserves in the mature endosperm of maize. **Genetics**, v.38, p.485-489, 1953.

LAVRINENKO K. et al. *Azospirillum thiophilum* sp. nov., a novel diazotrophic bacterium isolated from a sulfide spring. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.60, n.12, p.2832-283, 2010.

LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Nitrogen use efficiency. 1. Uptake of nitrogen from the soil. **Annals of Applied Biology**, v.149, p.243-247, 2006.

LEE, K.J.; GASKINS, M.H. Increased root exudation of <sup>14</sup>C-compounds by sorghum seedlings inoculated with nitrogenfixing bacteria. **Plant Soil**, v.69, p.391-399, 1982.

LEMAIRE, G.; GASTAL, F.N. N uptake and distribution in plant canopies. In: LEMAIRES, G. (ed.). **Diagnosis of the nitrogen status in crops**. Berlin, Springer, 1997. p.1-56.

LEMONS, M.A. et al. Capacidade geral e específica de combinação em híbridos simples de milho doce. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, p.48-56, 1999.

LEVANONY, H. et al. Ultrastructural localization and identification of *Azospirillum brasilense* Cd on and within wheat root by immuno-gold labeling. **Plant Soil**, v.117, p.207-218, 1989.

LEVIN, S. A.; MOONEY, H. A.; FIELD, C. The dependence of plant root: shoot ratios on internal nitrogen concentration. **Annals of Botany**, v.64, p.71-75, 1989.

LIMA, E.V. et al. Características agronômicas, produtividade e qualidade fisiológica da soja “Safrinha” sob semeadura direta, em função da cobertura vegetal e da calagem superficial. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.69-80, 2009.

LIN, C.Y. et al. *Azospirillum picis* sp. nov., isolated from discarded tar. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.59, p. 761-765, 2009.

LIN, W., OKON, Y.; HARDY, R.W.F. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, 45: 1775-1779, 1983.

LOOMIS, R.S.; WILLIAMS, W.A. Productivity and the morphology of crop stands: patterns with leaves. In: EASTIN, J.D., HASKIN, F.A., SULLIVAN, C.Y., VAN BAVEL, C.H.M. (eds.). **Physiological Aspects of Crop Yield**. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, p.27-47, 1969.

LOURENTE, E.R.P. et al. Culturas antecessoras, doses e fontes de nitrogênio nos componentes de produção do milho. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.29, n.1, p.55-61, 2007.

LUPATINI, G.C. et al. Avaliação da mistura de aveia preta e azevém sob pastejo submetida a níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, n.11, p. 1939-1943, 1998.

MACHADO, A.T. et al. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p.961-970, 1998.

MAGALHÃES, F.M.M. et al. A new acid tolerant *Azospirillum* species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.55, p.417-430, 1983.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da produção do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2006. 10p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica 76).

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

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Editora Ceres. 2006. 631p.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Padrões para produção e comercialização de sementes de milho**. Disponível em: [http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/PDF/padroes\\_milho.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/PDF/padroes_milho.pdf). Acesso em: 16 de dezembro de 2014.

MAR, G.D. et al. Produção do milho safrinha em função de doses e épocas de aplicação de nitrogênio. **Bragantia**, v.62, n.2, 2003.

MARQUES, O.J. et al. Incidência fúngica e contaminações por micotoxina em grãos de híbridos comerciais de milho em função da umidade de colheita. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.31, n.4, p.667-675, 2009.

MARSCHNER, P. **Mineral Nutrition of Higher Plants**.3 ed. London: Academic Press, 2011. 672 p.

McDONALD, M.B.; SULLIVAN, J.; LAWER, M.J. The pathway of water uptake in maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.22, n.1, p.79-90, 1994.

MEHNAZ, S.; WESELOWSKI, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum canadense* sp. a nitrogen-fixing bacterium isolated from corn rhizosphere. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.57, n.3, p.620-624, 2007.

MELGAR, R.J.; SMYTH, T.J.; CRAVO, M.S. Aplicação de fertilizante nitrogenado para milho em Latossolo da Amazônia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.15, n.2, p.289-296, 1991.

MENDONÇA, M.M.; URQUIAGA, S.S.; REIS, V.M. Variabilidade genotípica de milho para acumulação de nitrogênio e contribuição da fixação biológica de nitrogênio. **Revista Agropecuária Brasileira**, v.41, n.11, p.1681-1685, 2006.

MENGEL, D.B.; BARBER, S.A. Rate of nutrient uptake per unit of corn root under field conditions. **Agronomy Journal**, v.6, p.399-402, 1974.

MICHIELS, K.W.; CROES, C.L.; VANDERLEYDEN, J. Two different modes of attachment of *Azospirillum brasilense* Sp7 to wheat roots. **Journal of General Microbiology**, v.137, p.2241-2246, 1991.

MIFLIN, B. J., LEA, P. J. The pathway of nitrogen assimilation in plants. **Phytochemistry**, v.15, p.873-885, 1976.

MILLET, E., AVIVI, Y.; FELDMAN, M. Yield response of various wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Plant Soil**, v.80, p.261-266, 1986.

MOENS, S. et al. Cloning, sequencing, and phenotypic analysis of *laf1*, encoding the flagellin of the lateral flagella of *Azospirillum Brasilense* Sp7. **Journal of Bacteriology**, v.177, p.5419-5426, 1995.

MORETTI, C.L.; HENZ, G.P. Manuseio pós-colheita de milho doce. In: PEREIRA FILHO, I.A. **O cultivo do milho verde**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. p. 208-217.

MURTY, M.G.; LADHA, J.K. Differential colonization of *Azospirillum lipoferum* on roots of two varieties of rice (*Oryza sativa* L.). **Biology and Fertility Soils**, v.4, p.3-7, 1987.

NASCIMENTO, W.M.; PESSOA, H.B.S.V.; BOITEUX, L.S. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce submetidas a diferentes processos de colheita, debulha e beneficiamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.8, p.1211-1214, 1994.

NASERIRAD, H.; SOLEYMANIFARD, A.; NASERI, R. Effect of integrated application of bio-fertilizer on grain yield, yield components and associated traits of maize cultivars. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v.10, n.2, p.271-277, 2011.

NIED, A.H. et al. Épocas de semeadura do milho com menor risco de ocorrência de deficiência hídrica no município de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.995-1002, 2005.

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

OKON, Y.; KAPULNIK, Y. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. **Plant Soil**, v.90, p.3-16, 1986.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALES, C.A. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. **Soil Biology & Biochemistry**, v.26, p.1591-1601, 1994.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, n.7, p.366-370, 1997.

OKUMURA, R.S. et al. Effects of nitrogen rates and timing of nitrogen topdressing applications on the nutritional and agronomic traits of sweet corn. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.12, n.2, p.391-398, 2014.

OLIVEIRA, E.L. Milho: Adubação e Calagem. In: OLIVEIRA, E.L. **Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no estado do Paraná**. Londrina: IAPAR, p. 22-23, 2003.

OLIVEIRA JUNIOR, L.F.G. et al. Seleção de genótipos de milho mais promissores para o consumo *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p.159-165, 2006.

OLSEN, J.K.; GILES, J.E.; JORDAN, R.A. Post-harvest carbohydrate changes and sensory quality of three sweet corn cultivars. **Scientia Horticulturae**, v.44, p.179-189, 1990.

OLSTHOORN, A.F.M. et al. Influence of ammonium on fine root development and rhizosphere pH of Douglas-fir seedlings in sand. **Plant Soil**, v.133, p.75-81, 1991.

PAIVA, E. et al. Seleção de progênies de milho doce de alto valor nutritivo com auxílio de técnicas eletroforéticas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.27, p.1213-1218, 1992.

PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.G.; MAGNAVAC, R.; REIFSCHEIDER, F.B.; VILAS BOAS, G.L. Milho Doce. **Informe Agropecuário**, v.14, n.165, p.17-22, 1990.

PATRIQUIN, D.G.; DÖBEREINER, J. Light microscopy observations of tetrazolium-reducing bacteria in the endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 24, p. 742, 1978.

PATTEN, C. L.; GLICK, B. R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, v.42, p.207-220, 1996.

PAVINATO, P.S. et al. Nitrogênio e potássio em milho irrigado: análise técnica e econômica da fertilização. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.358-364, 2008.

PENG, G. et al. *Azospirillum melinis* sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses grass. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n.56, p.1263-1271, 2006.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C. Cultivares de milho para o consumo verde. **Circular Técnica**, n.15. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, p.1-7, Jan., 2002.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J.C.; GAMA, E. E. G. Cultivares para o consumo verde. In: PEREIRA FILHO, I.A. (Ed.). **O cultivo do milho verde**. Brasília: Embrapa, 2003. p.17-30.

PICCININ, G.G. et al. Agronomic efficiency of *Azospirillum brasilense* in physiological parameters and yield components in wheat crop. **Journal of Agronomy**, v.10, n.4, p.132-135, 2011.

PÖTTKER, D.; WIETHÖLTER, S. Épocas e métodos de aplicação de nitrogênio em milho cultivado no sistema plantio direto. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1015-1020, 2004.

QUADROS, P.D. et al. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v.61, n.2, p.209-218, 2014.

RAMBO, L. et al. Parâmetros da planta para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura em milho. **Ciência Rural**, v.34, n.5, p.1637-1645, 2004.

RAMBO, L. et al. Adequação de doses de nitrogênio em milho com base em indicadores de solo e de planta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.401-409, 2008.

RAO, A.C.S. et al. Considerations in estimating nitrogen recovery efficiency by the difference and isotopic dilution methods. **Fertilizer Research**, v.33, p.209-217, 1992.

RAO, V.R. et al. Yield responses of rice to root inoculation with *Azospirillum*. **Journal Agricultural Science**, v.100, p.689-691, 1983.

REINHOLD, B.; HUREK, T.; FENDRIK, I. Strain-specific chemotaxis of *Azospirillum* spp. **Journal of Bacteriology**, v.162, p.190-195, 1985.

REINHOLD, B. et al. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov. a nitrogen fixing organism associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth). **Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.37, p.43-51, 1987.

REIS, V.M. et al. Biological nitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Review in Plant Sciences**, v.19, p.227-247, 2000.

REIS, V.M. et al. *Burkholderia tropica* sp. nov., a novel nitrogen-fixing plant-associated bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.54, p.1-28, 2004.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Cooperative Extension Service, 1993. 26p. (Special Report, 48).

ROESCH, L.F. et al. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1201-1204, 2005.

SALA, V.M.R. et al. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.6, p.833-842, 2007.

SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertilizer Soils**, v.21, p.193-196, 1996.

SANDER, D.H.; ALLAWAY, W.H.; OLSEN, R.A. Modification of nutritional quality by environment and production practices. In: OLSEN, R.A.; FREY, K.J. (Eds). **Nutritional quality of cereal grains: genetic and agronomic improvement**. 1987. American Society of Agronomy, Monograph, n.28, Madison, WI, p.45-82.

SANGOI, L. Understanding plant density effects on maize growth and development: an important issue to maximize grain yield. **Ciência Rural**, v.31, n.1, p.159-168, 2000.

SANGOI, L.; GRACIETTI, M.A.; BIANCHET, P. Híbridos contemporâneos são mais exigentes em população de plantas para maximizarem o rendimento de grãos (compact51 disc). In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, n.24, Florianópolis, SC, 2002. **Anais**. Florianópolis: ABMS, 2002.

SANGOI, L. et al. Lixiviação de nitrogênio afetada pela forma de aplicação da uréia e manejo dos restos culturais de aveia em dois solos com texturas contrastantes. **Ciência Rural**, v.33, n.1, p.65-70, 2003a.

SANGOI, L. et al. Níveis de manejo na cultura do milho em dois ambientes contrastantes: análise técnico-econômica. **Ciência Rural**, v.33, n.6, p.1021-1029, 2003b.

SANGOI, L.; SCHMITT, A.; ZANIN, C.G. Área foliar e rendimento de grãos de híbridos de milho em diferentes populações de planta. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.6, p.263-271, 2007.

SANGOI, L. et al. Características agronômicas de cultivares de trigo em resposta a época de adubação nitrogenada em cobertura. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1564-1570, 2007.

SANTA, O.R.D. et al. Effects of inoculation of *Azospirillum* sp. in maize seeds under field conditions. **Food, Agriculture & Environment**, v.2, n.1, 2004.

SANTOS, M.M. et al. Épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na cultura do milho em plantio direto, e alocação do nitrogênio (<sup>15</sup>N) na planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, p.1185-1194, 2010.

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

SCHREIBER, H.A.; STANBERRY, C.O.; TUCKER, H. Irrigation and nitrogen effects on sweet corn row numbers at various growth stages. **Science**, v.135, p.1135-1136, 1988.

SCHRÖDER, J.J.; NEETESON, J.J.; OENEMA, O.; STRUIK, P.C. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production? Reviewing the state of the art. **Field Crops Research**, v.66, n.1, p.151-164, 2000.

SHARIFI, R.S.; KHA VAZI, K.; GHOLIPOURI, A. Effect of seed priming with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on dry matter accumulation and yield of maize (*Zea mays* L.) hybrids. **International Research Journal of Biohermistry and Bioinformatics**, v.13, p.76-83, 2011.

SILVA, J.B.; KARAN, D. manejo integrado de plantas daninhas na cultura do milho. **O Ruralista**, v.32, n.414, p.5-9, 1994.

SILVA, N. Melhoramento de milho doce. In: Encontro sobre temas de genética e Melhoramento. Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: ESALQ, 1994. v.11, p.45-49.

SILVA, C.A. et al. Mineralização de nitrogênio e enxofre em solos brasileiros sob influência da calagem e fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.9, p.1679-1689, 1999.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3<sup>a</sup> ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SILVA, A.A. et al. Produtividade do milho irrigado em sucessão a espécies invernais para produção de palha e grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.987-993, 2008.

SINGLETERY, G.W.; BELOW, F.E. Growth and composition of Maize kernels cultured in vitro with varying supplies of carbon and nitrogen. **Plant Physiology**, v.89, p.341-346, 1989.

SKVORTSOV, I.M.; IGNATOV, V.V. Extracellular polysaccharides and polysaccharide – containing biopolymers from *Azospirillum* species: properties and the possible role in interaction with plants roots. **FEMS Microbiology Letters**, v.165, p.223–229, 1998.

SOMMER, K.; SIX, R. Ammonium als Stickstoffquelle beim Anbau von Futtergerste. **Landwirtschaftliche Forschung**, v.38, p.151-161, 1982.

SOUZA, I.R.P.; MAIA, A.H.N.; ANDRADE, C.L.T. **Introdução e avaliação de milho doce na região do baixo Paranaíba**. Parnaíba: EMBRAPA-CNPAP, 1990. 7p.



SOUZA, L.C. et al. Culturas Antecessoras e Adubação Nitrogenada na Produtividade de Milho em Plantio Direto Irrigado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.2, n.3, p.55-62, 2003.

SOUZA, J.A. et al. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha irrigado em plantio direto. **Bragantia**, v.70, n.2, p.447-454, 2011.

SOUZA, R.S. et al. produtividade e qualidade do milho doce em diferentes populações de plantas. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.3, p.995-1010, 2013.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, j.; OKON, O. Plant growth-promoting actions of rhizobacteria. **Advances in Botanical Research**, v.51, p.283-320, 2009.

SPAGNOLLO, E. et al. Análise econômica do uso de leguminosas estivais intercalares à cultura do milho, na ausência e na presença de adubação nitrogenada, no oeste de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, p.709-715, 2001.

STANCHEVA, I. et al. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on photosynthetic enzyme activities and grain yield in maize. **Agronomie**, v.12, p.319-324, 1992.

STANFORD, G. Rationale for optimum nitrogen fertilization in corn production. **Journal of Environmental Quality**, v.2, p.159-166, 1973.

STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology Reviews**, v.24, n.4, p.487-506, 2000.

STORCK, L.; LOVATO, C. Milho doce. **Ciência Rural**, v.21, n.2, p.283-292, 1991.

STUDENT. The probable error of a mean. **Biometrika**, v.06, p.1-25, 1908.

SUNDERMAN, H.D.; PONTIUS, J.S.; LAWLESS, J.R. Variability in leaf chlorophyll concentration among fully-fertilized corn hybrids. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.28, n.19, p.1793-1803, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 5ed., 2013. 918p.

TARRANT, J.J.; KRIEG, N.R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with the descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v.24, p.967-980, 1978.

TEIXEIRA, L.A.J.; TESTA, V.M.; MIELNICZUK, J. Nitrogênio do solo, nutrição e rendimento de milho afetados por sistemas de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p.207-214, 1994.

TEIXEIRA, F.F. et al. Avaliação da capacidade de combinação entre linhagens de milho doce. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p.483-488, 2001.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.1016-1024, 1979.

TOMAZELA, A.L. et al. Doses de nitrogênio e fontes de Cu e Mn suplementar sobre a severidade da ferrugem e atributos morfológicos do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, n.2, p.192-201, 2006.

TOSELLO, G.A. Milhos especiais e seu valor nutritivo. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. (Eds). **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v.1, p.375-409.

TRACY, W.F. Sweet corn. In: HALLAUER, A.R. **Specialty corn**, Boca Raton. p.155-198, 2001.

UHART, S.A; ANDRADE, F.H. Nitrogen and carbon accumulation and remobilization during grain filling in maize under different source and sink ratios. **Crop Science**, v.35, p.183-190, 1995.

ULGER, A.C.; BECKER, A.C.; KANT,G. Response of various maize inbred line and hybrids to increasing rates of nitrogen fertilizer. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.159, n.3, p.157-63, 1995.

UMALI-GARCIA, M. et al. Association of *Azospirillum* with grass roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v.39, p.219-226, 1980.

UMALI-GARCIA, M. et al. Adsorption and mode of entry of *Azospirillum brasilense* to grass roots. In: **Associative N<sub>2</sub>-fixation**. VOSE, P.B.; RUSCHEL, A.P (eds). v.1. CRC Press, Boca Raton, FL. p.49-62, 1981.

VALENTINI, L.; SHIMOYA, A.; COSTA, C.C.S. **Milho doce: viabilidade técnica de produção em campos de Goytacazes: RJ**. Niterói: PESAGRO-RIO, 2002. 4 p. (PESAGRO-RIO. Comunicado Técnico, 275).

VANDE BROEK, A. et al. Auxins upregulate expression of the indole-3-pyruvate decarboxylase gene in *Azospirillum brasilense*. **Journal of Bacteriology**, v.181, p.1338-1342, 1999.

VARGAS, L.K; SELBACH, P.A.; SÁ, E.L.S. Imobilização de nitrogênio em solo cultivado com milho em sucessão à aveia preta nos sistemas plantio direto e convencional. **Ciência Rural**, v.35, n.1, p.76-83, 2005.

VARVEL, G.E.; SCHPERS, J.S.; FRANCIS, D.D. Ability for in-season correction of nitrogen deficiency in corn using chlorophyll meters. **Soil Science Society of American Journal**, v.61, p.1233-1239, 1997.

VELOSO, M.E.C. et al. Teor de nitrogênio, índice de área foliar e de colheita, no milho, em função da adubação nitrogenada, em solos de várzea. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.8, n.1, p.13-25, 2009.

VOGEL, A.I. **Análise Química Quantitativa**. Tradução: Horácio Macedo. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1992. 712p.

VICTORIA, R.L.; PICCOLO, M.C.; VARGAS, A.A.T. O ciclo do nitrogênio. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.105-120.

VITTI, G.C. et al. Influência da mistura de sulfato de amônio com uréia sobre a volatilização de nitrogênio amoniacal. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.663-671, 2002.

XIE, C. H.; YOKOTA, A. *Azospirillum oryzae* from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v. 55, p. 1435-1438, 2005.

WATANABE, I.; LIN, C. Response of wetland rice to inoculation with *Azospirillum lipoferum* and *Pseudomonas* sp. **Soil Science & Plant Nutrition**, v.30, p.117-124, 1984.

WATERS JR., L.; BLANCHETTE, B. Prediction of sweet corn field emergence by conductivity and cold tests. **Journal of American Society Horticultural Science**, v.108, n.5, p.78-81, 1983.

WHITE, R.E. Leaching. In: WILSON, J. R. **Advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems**. Wallingford : C.A.B. International, 1987. p.193-211.

WIETHÖLTER, S. **Adubação nitrogenada no sistema plantio direto**. Passo Fundo, EMBRAPA/CNPT, 1996. 44p.

WOLSCHICK, D. et al. Adubação nitrogenada na cultura do milho no sistema plantio direto em ano com precipitação pluvial normal e com “el niño”. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.461-468, 2003.

YAZDANI, M. et al. Effect of phosphate solubilization microorganisms (PSM) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and yield components of corn (*Zea mays* L.). **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v.25, p.1-26, 2009.

ZHULIN, I.B.; TRETYAKOVA; S.E.; IGNATOV, V.V. Chemotaxis of *Azospirillum brasilense* towards compounds typical of plant root exudates. **Folia Microbiologica**, v.33, n.4, p.277-280, 1988.

ZILLI, J.É; CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Eficácia da inoculação de *Bradyrhizobium* em pré-  
semeadura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.3, p.335-338, 2010.

ZIMMERMANN, F.J.P. **Estatística aplicada à pesquisa agrícola**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2 ed., 2014. 582p.

## **APÊNDICE**

**Tabela 1A.** Características do inoculante contendo *Azospirillum brasilense* usado na Safra de “Verão” de 2012/2013 e na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná

Inoculante <sup>1</sup>	Estirpes	Suporte	Culturas
Formulação líquida	AbV5 e AbV6 (UFPR)	Água	Milho, trigo e arroz

<sup>1</sup>Produzido e comercializado por: Stoller do Brasil Ltda.; **Densidade:** 1 g mL<sup>-1</sup>; **Concentração mínima:** 2x10<sup>8</sup> de células viáveis mL<sup>-1</sup>; **Aditivos:** Poliol, ácido carboxílico, estabilizante/conservante e tensoativo; **Dose recomendada pela empresa:** 100 mL ha<sup>-1</sup>.

**Tabela 2A.** Resumo da análise de variância individual das características fenotípicas altura de plantas (AP), índice de área foliar (IAF), teor de N foliar (TNF), número de fileiras de grãos por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), produtividade de espigas despalhadas (PED), produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD), teor de proteína (TP) e teor de açúcares totais (AT) do milho doce na Safra de “Verão” de 2012/2013, em Maringá, Noroeste do Paraná

Fontes de Variações	GL	Quadrados Médios								
		AP	IAF	TNF	NFE	NGF	PED	PECD	TP	AT
		m	m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup>	g kg <sup>-1</sup>	----- Unidade -----	----- Mg ha <sup>-1</sup> -----	----- % -----			
Inoculante (I)	4	0,012924 <sup>ns</sup>	0,794951*	11,86896 <sup>ns</sup>	0,543750 <sup>ns</sup>	3,834063 <sup>ns</sup>	1,056783 <sup>ns</sup>	2,048836*	2,958557**	1,841493 <sup>ns</sup>
N Sem. (NS)	1	0,017405 <sup>ns</sup>	0,099405 <sup>ns</sup>	12,824011 <sup>ns</sup>	2,450000 <sup>ns</sup>	1,984500 <sup>ns</sup>	1,682000 <sup>ns</sup>	0,219451 <sup>ns</sup>	2,767680**	26,404020 <sup>ns</sup>
N Cob. (NC)	1	0,002645 <sup>ns</sup>	0,468180 <sup>ns</sup>	155,319511**	1,250000 <sup>ns</sup>	3,362000 <sup>ns</sup>	7,248080*	0,013261 <sup>ns</sup>	8,804645**	190,529645**
NS x NC	1	0,000245 <sup>ns</sup>	1,420445*	0,007031 <sup>ns</sup>	1,250000 <sup>ns</sup>	17,112500 <sup>ns</sup>	0,483605 <sup>ns</sup>	0,291611 <sup>ns</sup>	0,005780 <sup>ns</sup>	25,245045 <sup>ns</sup>
I x NS	4	0,002211 <sup>ns</sup>	0,290642 <sup>ns</sup>	5,343305 <sup>ns</sup>	0,606250 <sup>ns</sup>	8,331687 <sup>ns</sup>	3,665047 <sup>ns</sup>	1,216179 <sup>ns</sup>	0,053468 <sup>ns</sup>	55,286657*
I x NC	4	0,006201 <sup>ns</sup>	0,266368 <sup>ns</sup>	3,741217 <sup>ns</sup>	1,156250 <sup>ns</sup>	1,712312 <sup>ns</sup>	3,184702 <sup>ns</sup>	0,994702 <sup>ns</sup>	0,414083 <sup>ns</sup>	8,106633 <sup>ns</sup>
I x NS x NC	4	0,007601 <sup>ns</sup>	0,162451 <sup>ns</sup>	4,319031 <sup>ns</sup>	2,843750 <sup>ns</sup>	5,849688 <sup>ns</sup>	2,122571 <sup>ns</sup>	1,035708 <sup>ns</sup>	1,450317**	22,893257 <sup>ns</sup>
Blocos	3	0,011018	0,109750	1,828041	1,150000	2,025000	4,909522	3,644975	1,351108	12,852083
Resíduo	57	0,006061	0,276978	5,533281	1,483333	6,642719	1,484451	0,765578	0,391295	15,464807
Média geral		2,24	4,05	28,61	16,43	41,25	12,36	7,67	12,82	39,05
CV (%)		3,48	13,00	8,22	7,42	6,25	9,86	11,41	4,88	10,07

\* e \*\* Significativo a 5 % e 1 % de probabilidade, respectivamente, e <sup>ns</sup> não significativo (P > 0,05), pelo teste F.

**Tabela 3A.** Resumo da análise de variância individual das características fenotípicas altura de plantas (AP), índice de área foliar (IAF), teor de N foliar (TNF), número de fileiras de grãos por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF), produtividade de espigas despalhadas (PED), produtividade de espigas comerciais despalhadas (PECD), teor de proteína (TP) e teor de açúcares totais (AT) do milho doce na Safra de “Outono-Inverno” de 2013, em Maringá, Noroeste do Paraná

Fontes de Variações	GL	Quadrados Médios								
		AP	IAF	TNF	NFE	NGF	PED	PECD	TP	AT
		m	m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup>	g kg <sup>-1</sup>	----- Unidade -----		----- Mg ha <sup>-1</sup> -----		----- % -----	
Inoculante (I)	4	0,015674 <sup>ns</sup>	0,378205 <sup>**</sup>	14,597461 <sup>ns</sup>	1,130000 <sup>ns</sup>	7,771871 <sup>ns</sup>	1,427816 <sup>*</sup>	0,677592 <sup>ns</sup>	1,740386 <sup>ns</sup>	4,583561 <sup>ns</sup>
N Sem. (NS)	1	0,589961 <sup>**</sup>	3,582811 <sup>**</sup>	11,400500 <sup>ns</sup>	2,485125 <sup>ns</sup>	5,481045 <sup>ns</sup>	3,810645 <sup>*</sup>	2,128781 <sup>ns</sup>	8,140880 <sup>*</sup>	12,222661 <sup>ns</sup>
N Cob. (NC)	1	0,230051 <sup>**</sup>	5,591531 <sup>**</sup>	498,301445 <sup>*</sup>	0,055125 <sup>ns</sup>	4,560125 <sup>ns</sup>	10,310480 <sup>**</sup>	6,791951 <sup>*</sup>	3,672245 <sup>ns</sup>	22,610011 <sup>ns</sup>
NS x NC	1	0,076261 <sup>**</sup>	0,187211 <sup>ns</sup>	0,521645 <sup>ns</sup>	1,176125 <sup>ns</sup>	5,191805 <sup>ns</sup>	0,453005 <sup>ns</sup>	0,727711 <sup>ns</sup>	3,073280 <sup>ns</sup>	6,390151 <sup>ns</sup>
I x NS	4	0,001093 <sup>ns</sup>	0,010574 <sup>ns</sup>	6,097694 <sup>ns</sup>	0,379500 <sup>ns</sup>	4,465173 <sup>ns</sup>	0,579704 <sup>ns</sup>	0,711634 <sup>ns</sup>	3,469352 <sup>*</sup>	80,519630 <sup>**</sup>
I x NC	4	0,005733 <sup>ns</sup>	0,036181 <sup>ns</sup>	6,613320 <sup>ns</sup>	1,171375 <sup>ns</sup>	3,153534 <sup>ns</sup>	0,304396 <sup>ns</sup>	1,041617 <sup>ns</sup>	0,652342 <sup>ns</sup>	42,412880 <sup>ns</sup>
I x NS x NC	4	0,005024 <sup>ns</sup>	0,073293 <sup>ns</sup>	6,739670 <sup>ns</sup>	0,912375 <sup>ns</sup>	4,235677 <sup>ns</sup>	0,688727 <sup>ns</sup>	0,686877 <sup>ns</sup>	0,355521 <sup>ns</sup>	51,486864 <sup>*</sup>
Blocos	3	0,024285	0,023168	25,782757	1,359458	13,411048	2,515440	0,794698	0,652442	41,271671
Resíduo	57	0,006581	0,082494	8,866610	0,824546	3,626215	0,547868	0,805551	0,961113	17,993444
Média geral		1,93	2,71	25,85	16,01	34,24	11,27	7,48	11,87	42,93
CV (%)		4,21	10,59	11,52	5,67	5,56	6,57	11,99	8,26	9,88

\* e \*\* Significativo a 5 % e 1 % de probabilidade, respectivamente, e <sup>ns</sup> não significativo (P > 0,05), pelo teste F.