

Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho¹

Gildean Portela Moraes², Vânia Felipe Freire Gomes³, Paulo Furtado Mendes Filho³, Aldênia Mendes Mascena de Almeida⁴, José Maria Tupinambá da Silva Júnior⁴

¹Submetido em 28-07-2016 e aprovado em 26-07-2017

²Mestre em Ciência do Solo, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, CEP: 60.440-554; e-mail: gildeanportela@hotmail.com.

³Professor Titular da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, CEP: 60.440-554; e-mail: vaniafreire@ufc.br; mendes@ufc.br

⁴Doutor em Ciência do Solo, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, CEP: 60.440-554; e-mail: ald_m_m@hotmail.com; jmtilvajunior@gmail.com

Resumo - A adubação nitrogenada por fertilizantes minerais é um dos principais manejos utilizados pelos produtores como forma de suprir as necessidades das plantas com esse nutriente. O objetivo foi avaliar o efeito da adubação nitrogenada sobre o crescimento de plantas híbridas de milho associadas com bactérias diazotróficas endofíticas. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, por um período de 90 dias, com substrato natural. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, sendo que os tratamentos foram dispostos no esquema fatorial 2 x 4, com quatro repetições e constituídos, pela inoculação e não com o produto comercial a base de *Azospirillum brasilense* combinados com quatro diferentes doses de nitrogênio (0; 0,0714; 0,1428 e 0,2142 g kg⁻¹). Foram avaliados os dados relativos à altura, diâmetro do colmo, área foliar, teor de clorofila, massa seca das folhas, colmo e raiz das plantas de milho, cultivadas em condições de casa de vegetação. As plantas de milho BM 3061 inoculadas com *Azospirillum brasilense* respondeu positivamente as doses de nitrogênio. Porém a dose que 0,1428 g kg⁻¹ de N foi a que apresentou melhor comportamento, podendo ser indicada para adubação do milho.

Palavras-chave: Sulfato de Amônio; *Zea mays* L.; Fixação Biológica do Nitrogênio; Bactéria Diazotrófica.

Nitrogenated fertilizer associated with inoculation with *Azospirillum brasilense* in maize culture

Abstract - Nitrogen fertilization by mineral fertilizers is one of the main managements used by producers as a way to supply the needs of plants with this nutrient. The objective was to evaluate the effect of nitrogen fertilization on the growth of hybrid maize plants associated with endophytic diazotrophic bacteria. The experiment was conducted in a greenhouse for a period of 90 days, with natural substrate. The experimental design was a randomized complete block design, and the treatments were arranged in a 2 x 4 factorial scheme, with four replications, and inoculated with the commercial product based on *Azospirillum brasilense*, combined with four different doses of nitrogen (0; 0.0714; 0.1428 and 0.2142 g kg⁻¹). Data on height, stem diameter, leaf area, chlorophyll content, leaf dry matter, stem and root of maize plants, were evaluated under greenhouse conditions. The BM 3061 maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense* responded positively to the nitrogen doses. However, the dose that 0.1428 g kg⁻¹ of N was the one that presented the best behavior and could be indicated for fertilization of maize.

Keywords: Ammonium Sulphate; *Zea mays* L.; Biological Nitrogen Fixation; Diazotrophic Bacteria.

1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura de enorme importância no cenário mundial devido sua múltipla utilização, além de ser fonte de alimento para a população e animais domésticos constituindo-se em matéria-prima para diversos produtos industrializados, criando e movimentando indústrias onde empregos são gerados refletindo diretamente nos aspectos socioeconômicos (OKUMURA; MARIANO; ZACCHEO, 2011; SCHIAVINATTI et al., 2011; MODESTO et al., 2017).

O nitrogênio (N) é o nutriente que proporciona os maiores efeitos nos componentes do rendimento e na produtividade do milho, influenciando diversas características do crescimento da planta. O manejo e recomendação do N é complexo, em virtude das várias reações químicas e biológicas a que está sujeito e de sua grande dependência das condições edafoclimáticas para absorção pela planta (MOTA et al., 2015).

Na cultura do milho, o N é o macronutriente mais exigido e seu suprimento impróprio é considerado um dos principais fatores limitantes ao crescimento e rendimento dos grãos. Assim, plantas supridas com doses corretas de N, obtêm crescimento satisfatório, podendo gerar maior produtividade (SILVA; SILVA; LIBADI, 2013).

Nas plantas, o elemento é componente da molécula da clorofila, de aminoácidos, enzimas e proteínas, afetando a formação de raízes, a fotossíntese, a produção e a translocação de fotoassimilados e a taxa de crescimento entre folhas e raízes. Na ocorrência de deficiência nutricional do N, o crescimento foliar é afetado e como consequência, temos a diminuição do desenvolvimento da planta (CUNHA et al., 2014). Em virtude disso, os sistemas de produção do milho devem ser aprimorados, para que os produtores obtenham altas produtividades com redução de custos, principalmente no emprego de fertilizantes nitrogenados.

Diante disso, diversas pesquisas (DARTORA et al., 2013; BALDOTTO et al., 2012; BARTCHECHEN et al., 2010; REIS JUNIOR et al., 2008) vêm estudando a fixação biológica de nitrogênio (FBN) na cultura do milho, com intuito de minimizar os custos com os

adubos minerais nitrogenados. Pois a FBN é um importante processo bioquímico pelo qual bactérias associadas à planta transformam o N₂ da atmosfera em nitrogênio assimilável pelas plantas.

Na FBN, bactérias com capacidade de fixar o N₂ utilizam parte da energia derivada da fotossíntese das plantas e, dessa forma, espécies vegetais capazes de se associarem de forma eficiente com bactérias diazotróficas aproveitam naturalmente o nitrogênio atmosférico, contribuindo para uma enorme economia de energia fóssil.

No Brasil, pesquisas com inoculação de bactérias fixadoras de nitrogênio em milho têm sido realizadas priorizando-se o incremento de produtividade agrônômica e a economia no uso de fertilizantes minerais nitrogenados, pois as bactérias diazotróficas têm como principal atividade a promoção de crescimento da cultura. Portanto objetivou-se avaliar o efeito da adubação nitrogenada sobre o crescimento de plantas híbridas de milho associadas com bactérias diazotróficas endofíticas.

2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Pici, Fortaleza, Ceará, Brasil, por um período de 90 dias. Segundo a classificação de Köppen, a região apresenta um clima do tipo Aw' e está a uma altitude de 20 m acima do nível do mar, com temperatura média anual de 26°C e precipitação média anual em torno de 1.350,0 mm (FUNCEME, 2017). Durante o experimento as temperaturas mínimas e máximas da casa de vegetação variaram entre 25 a 35 °C respectivamente.

O substrato utilizado, não esterilizado, foi proveniente de um Argissolo, sendo esse coletado a uma profundidade de 0-20 cm na Fazenda Raposa em uma área de mata nativa, pertencente à Universidade Federal do Ceará, localizada no município de Maracanaú-CE (3°50'66" S e 38°38'38" W), cuja as características químicas e físicas (Tabela 1) foram determinadas no Laboratório de Análises de Solo, Água e Plantas, do Departamento de Ciências do Solo da UFC.

Tabela 1 Características químicas e físicas do solo da área experimental amostrado na profundidade de 0-20 cm, na fazenda Raposa, Maracanaú-CE

Características Químicas															
pH	CE	Ca	Mg	Na	K	H + Al	Al	S	T	V	M	C	N	MO	P
	dS m ⁻¹	----- cmol _c kg ⁻¹ -----					----- % -----			----- g kg ⁻¹ -----		mg kg ⁻¹			
4,7	0,24	0,90	0,90	0,07	0,19	3,30	1,40	2,1	5,4	39	40	2,88	0,27	4,97	4
Características Físicas															
Areia Grossa		Areia Fina		Silte	Argila	Argila Natural		Classificação Textural							
----- g kg ⁻¹ -----						-----									
461		318		143	78	24		Franco arenoso							

De acordo com resultados da análise química foi realizada a correção da fertilidade do solo conforme a recomendação do Manual de Adubação e Calagem para Estado do Ceará (AQUINO et al., 1993). Para elevação dos níveis de Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) do solo, foram aplicadas 1.142,8 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico, o equivalente a 0,5714 g kg⁻¹ por vaso, para correção da acidez ativa do solo (pH 4,7), essa recomendação foi realizada de acordo com a análise de solo e com as recomendações de Aquino et al. (1993).

Após a aplicação o solo natural foi incubado por um período de reação que durou 30 dias, mantendo a umidade do solo em torno da capacidade de campo com irrigações periódicas até quando apresentou valor de pH 6,5. Posteriormente, em cada vaso contendo 7 kg de solo foram semeadas duas sementes de milho híbrido BM 3061 a 3 cm de profundidade. Em seguida, conforme recomendação de Hungria e Araújo (1994), 1 mL do inoculante comercial líquido (Tabela 2) contendo estirpes de bactéria *Azospirillum brasilense* em concentração mínima de 2x10⁸ células viáveis mL⁻¹ foi aplicado às sementes por ocasião do plantio e mais 1 mL aplicados no colo das plântulas após 10 dias da emergência, como reforço. Esse inoculante foi caracterizado quimicamente (Tabela 2) pelo Laboratório de Análises de Solo, Água e Plantas,

do Departamento de Ciências do Solo da UFC, com a finalidade de determinar as características químicas do produto.

As adubações das plantas iniciaram aos sete dias após o plantio, todos os tratamentos foram adubados com 500 kg ha⁻¹ de Superfosfato Triplo (ST) (37% de P₂O₅), equivalendo a 0,25 g kg⁻¹ de ST em cada vaso. Essa adubação corresponde a 228 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e esse valor equivale a 0,114 g kg⁻¹ de P₂O₅ por vaso. A adubação com Cloreto de Potássio (KCl) (58% de K₂O) foi parcelada em duas etapas, a primeira aplicação no dia seguinte a adubação fosfatada e a segunda vinte dias após a primeira, sendo fornecido em cada adubação 236 kg ha⁻¹ de KCl que equivale a 0,118 g kg⁻¹ por vaso. Em termos de K₂O essa adubação é igual a 142,8 kg ha⁻¹, que equivale a 0,0714 g kg⁻¹ por vaso, em cada adubação potássica.

Para os tratamentos que receberam adubação nitrogenada, a fonte de N utilizada foi o Sulfato de Amônio (NH₄)₂SO₄, aplicado de forma parcelada em até três etapas, de acordo com a quantidade de N requerida pelos tratamentos. Os tratamentos que requeriam 142,8 kg ha⁻¹ (0,0714 g kg⁻¹ de N por vaso) receberam apenas uma aplicação de 791,4 kg ha⁻¹ de Sulfato de Amônio (20% de N), que equivale a 0,395 g kg⁻¹ por vaso, nove dias após o plantio.

Tabela 2 Características químicas do produto comercial líquido contendo estirpes de bactéria *Azospirillum brasilense*

N	P	P ₂ O ₅	K	K ₂ O	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn
----- g L ⁻¹ -----						----- mg L ⁻¹ -----				
0,5	1,2	2,7	5,8	7,1	3,7	0,2	29,3	3,3	1,7	6,6

Os tratamentos que requeriam 285,6 kg ha⁻¹ (0,1428 g kg⁻¹ de N por vaso) receberam uma segunda aplicação de 791,4 kg ha⁻¹ de Sulfato de Amônio (20% de N), que equivale a 0,395 g kg⁻¹

por vaso, quinze dias após a primeira, enquanto que os tratamentos que requeriam 428,4 kg ha⁻¹ (0,2143 g kg⁻¹ de N por vaso) receberam uma terceira aplicação de 791,4 kg ha⁻¹ de Sulfato de

Amônio (20% de N), que equivale a 0,395 g kg⁻¹ por vaso, quinze dias após a segunda aplicação (AQUINO et al., 1993).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, dispostos no esquema fatorial 2 x 4, com quatro repetições, sendo que os fatores foram: com inoculação e sem inoculação do produto e quatro diferentes doses de N (0; 142,8; 285,6 e 428,4 kg ha⁻¹), que equivale a 0,0714; 0,1428 e 0,2142 g kg⁻¹ em cada vaso (Tabela 3). Foram utilizados um total de 32 vasos.

Tabela 3 Descrição dos tratamentos utilizados no experimento em casa de vegetação

Tratamentos	Inoculação	Doses de N	
		kg ha ⁻¹	g kg ⁻¹
T1 (controle)	Sem	0	0
T2	Com	0	0
T3	Sem	142,8	0,0714
T4	Com	142,8	0,0714
T5	Sem	285,6	0,1428
T6	Com	285,6	0,1428
T7	Sem	428,4	0,2142
T8	Com	428,4	0,2142

Após 60 dias do plantio, as plantas foram analisadas e coletadas na ocasião do aparecimento da inflorescência feminina, período onde a concentração de nutrientes é maior em seu tecido vegetal, conforme metodologia proposta por Ritchie; Hanway; Benson (2003). Antes da coleta das plantas foi determinada altura, diâmetro do colo, clorofila, área foliar e a coleta da quarta folha a partir do ápice para a determinação do estado nutricional das plantas (nitrogênio).

A altura e o diâmetro do colo das plantas foram determinados com auxílio de uma régua graduada e paquímetro digital adotado como referência a região do colo das plantas, respectivamente. Os teores relativos de clorofila nas folhas foram realizados através da leitura SPAD (*Soil Plant Analysis Development*), utilizando-se um clorofilômetro eletrônico, marca Konica Minolta modelo SPAD-502Plus; as leituras foram realizadas na região do terço superior da última folha completamente expandida de cada planta. A determinação da área foliar foi realizada por método direto, em que as folhas foram coletadas e medidas, utilizando um integrador de área foliar, LI-3100 (LI-COR 1996).

As plantas foram coletadas e seccionadas em folhas e colmos, sendo avaliada a matéria seca das folhas, a matéria seca do colmo e o teor de nitrogênio na folha. As amostras foram separadas e acondicionadas em sacos de papel e submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar a uma temperatura de 65-70°C até massa constante para determinação do peso matéria seca das folhas e colmos. A pesagem foi determinada em balança de precisão de 0,01 g.

O Nitrogênio total (NT) das folhas foram determinados em extrato de digestão sulfúrica pelo método de semi-micro-Kjeldahl, conforme metodologia proposta por Malavolta; Vitti; Oliveira (1997).

As análises estatísticas foram realizadas através do programa computacional SISVAR, de acordo com Ferreira (2014). Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos às análises de variância e, mediante constatação de diferença significativa, foi aplicado teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação dos fatores qualitativos (inoculação) e análise de regressão para os fatores quantitativos (doses).

3 Resultado e Discussão

O resumo da análise de variância para os dados relativos à altura, ao diâmetro do colmo, a área foliar, a clorofila, a massa seca das folhas e dos colmos e o teor de nitrogênio das folhas de plantas de milho revelam que houve efeito significativo ($p \leq 0,01$) apenas nas doses de nitrogênio. Não se verificou interação significativa entre a inoculação com *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio (Tabela 4). Cunha et al. (2014) também trabalhado em casa de vegetação não encontraram interação entre a inoculação com a bactéria *Azospirillum brasilense* e as doses de nitrogênio aplicadas em plantas de milho híbrido. De acordo com Repke et al. (2013) os fatores que interferem nas respostas das culturas à inoculação de *Azospirillum* ainda não estão totalmente esclarecidos. Porém alguns fatores como o número de células por sementes, o genotípico da planta, o gênero *Azospirillum*, a veiculação do inoculante, a viabilidade das células, as características químicas e a competição com micro-organismos nativos do solo podem influenciar a associação dessas bactérias com as culturas.

Tabela 4 Resumo da análise de variância para as variáveis: altura (AL), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF), clorofila (CL), massa seca das folhas (MF), massa seca dos colmos (MC) e teor de nitrogênio na folha (NF) em plantas de híbrido de milho BM 3061, em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* (I) em diferentes doses de adubação nitrogenada (D)

Fontes de variação	Quadrado médio							
	G.L	AL	DC	AF	CL	MF	MC	NF
Inoculação (I)	1	1,07 ^{ns}	2,36 ^{ns}	0,010 ^{ns}	0,539 ^{ns}	0,019 ^{ns}	1,78 ^{ns}	0,030 ^{ns}
Doses (D)	3	12,38**	7,82**	44,21**	23,718**	201,05**	456,36**	194,32**
Inter. I x D	3	1,39 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,754 ^{ns}	0,360 ^{ns}	0,45 ^{ns}	1,48 ^{ns}
Blocos	3	8,49**	5,41**	2,04 ^{ns}	1,441 ^{ns}	0,072 ^{ns}	1,15 ^{ns}	0,37 ^{ns}
CV (%)		7,94	9,35	15,90	16,98	6,89	3,65	10,68

** , * e ^{ns}: Significativo a 1 % de probabilidade ($p \leq 0,01$) e 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$) pelo teste F e não significativo, respectivamente.

Nesse estudo um do fator influenciou a ausência do efeito significativo da inoculação nas plantas de milho foi a competição das bactérias nativas presente no solo natural, visto que o mesmo não passou por processo de esterilização. De acordo com Brandão (1992) a atividade e a sobrevivência da população de bacteriana do solo são influenciadas por diversos fatores ambientais, como competição com micro-organismos nativos do solo, temperatura, umidade, pH e salinidade. Dartora et al. (2013) relataram que a sobrevivência e a associação das bactérias diazotróficas é vulnerável as condições internas e externas do ambiente, visto que essas bactérias encontram associadas livremente as plantas, ou seja, na rizosfera ou no interior dos tecidos vegetais.

A altura e o diâmetro do colmo das plantas de milho BM 3061 apresentou um comportamento quadrático (Figura 1A e 1B) com um aumento nas doses de nitrogênios (0; 0,0714; 0,1428 e 0,2142 g kg⁻¹) aplicados aos tratamentos. Verificado que as maiores médias de altura e diâmetro do colmo foram observadas na dose 0,1428 g kg⁻¹, com valores médios de 1,34 m e 17,66 mm (Figura 1A), respectivamente. Sendo que na dose 0,2142 g kg⁻¹ observar uma redução em ambas. Esse incremento na altura e diâmetro do colmo está relacionado principalmente com as funções que o nitrogênio exerce diretamente na divisão celular, no metabolismo da planta e nos processos fotossintéticos. De acordo com Kappes et al. (2013) o aumento do diâmetro do colmo com a aplicação de nitrogênio é importante, pois está característica morfológica tem sido bastante relacionada com o percentual de acamamento das plantas de milho.

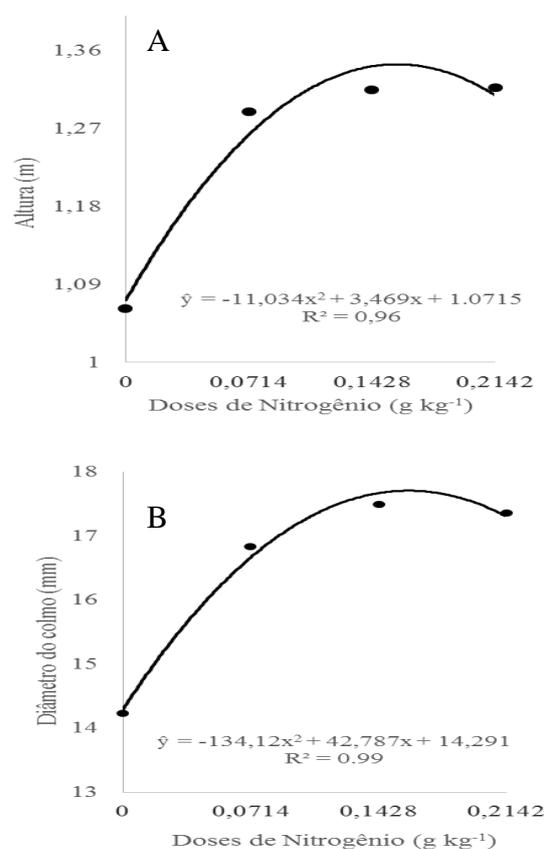


Figura 1 Altura (A) e diâmetro (B) de plantas híbridas de milho, em função de doses de nitrogênio (g kg⁻¹).

Cruz et al. (2008); Silva; Silva; Libadi (2013) também encontraram resultados similares nas variáveis altura e diâmetro do colmo em cultivares de milho sob doses crescente de nitrogênio, demonstrado que essas características agrônomicas dependem principalmente da aplicação de nitrogênio ao solo, pois esse nutriente estimular o crescimento e desenvolvimentos das plantas. No entanto, Meira

et al. (2009) estudando combinações de doses de nitrogênio na cultura do milho não encontrou diferenças significativas para o diâmetro do colmo.

A área foliar e teor de clorofila apresentaram desempenhos semelhantes com um comportamento linear de acordo com a análise de regressão (Figura 2A e 2B). As maiores médias para as duas variáveis foram obtidas mediante a dose de 0,2142 g kg⁻¹, apresentando valores de 3739,69 cm² e 33,07 ICF, respectivamente. Esse aumento significativo na área foliar e no teor de clorofila deve-se a aplicação de doses crescente de nitrogênio nas plantas de milho, pois o nitrogênio apresenta papel importante no metabolismo das plantas, nos processos de biossíntese de proteínas e de clorofilas (FORNASIERI FILHO, 2007). Mota et al. (2014) também observaram elevação linear na área foliar e no teor de clorofila nas folhas de milho em resposta ao incremento de doses de nitrogênio.

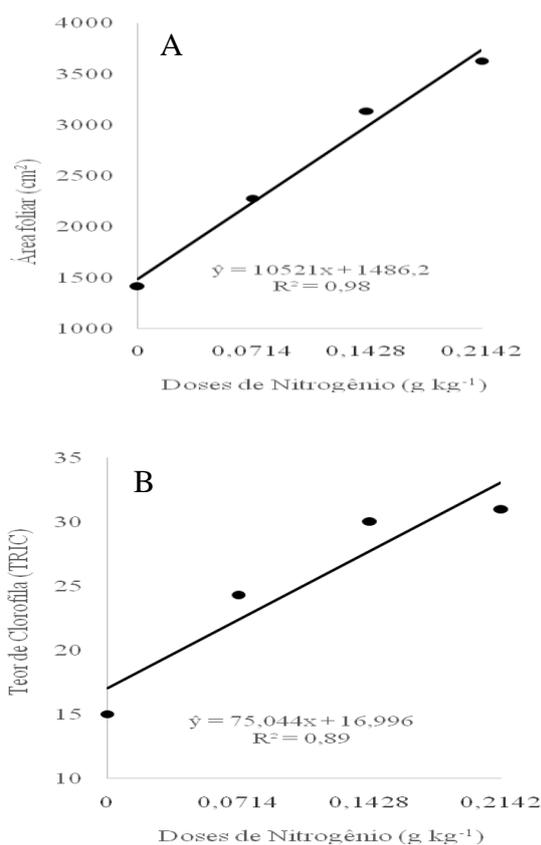


Figura 2 Área foliar (A) e teor de clorofila (B) de plantas híbridas de milho BM 3061, em função de doses de nitrogênio (g kg⁻¹).

De acordo com Martins et al. (2008) a disponibilidade de N no solo influencia

diretamente os teores de clorofila em plantas de milho, pois o nitrogênio é um dos constituintes da clorofila. Rambo et al. (2010) verificaram forte relação dos teores de clorofila com as doses de N aplicadas e com a produtividade de grãos. Os mesmos autores sugeriram ser possível estimar a necessidade de adubação nitrogenada, a partir da determinação do teor de clorofila das folhas de plantas de milho.

As doses crescentes de nitrogênio favoreceram um incremento na massa seca e no teor de nitrogênio das folhas do milho BM 3061 (Figura 3), ajustando-se ao modelo quadrático e linear, respectivamente. Porém observa-se uma redução na massa seca das folhas de milho na dose maior de N.

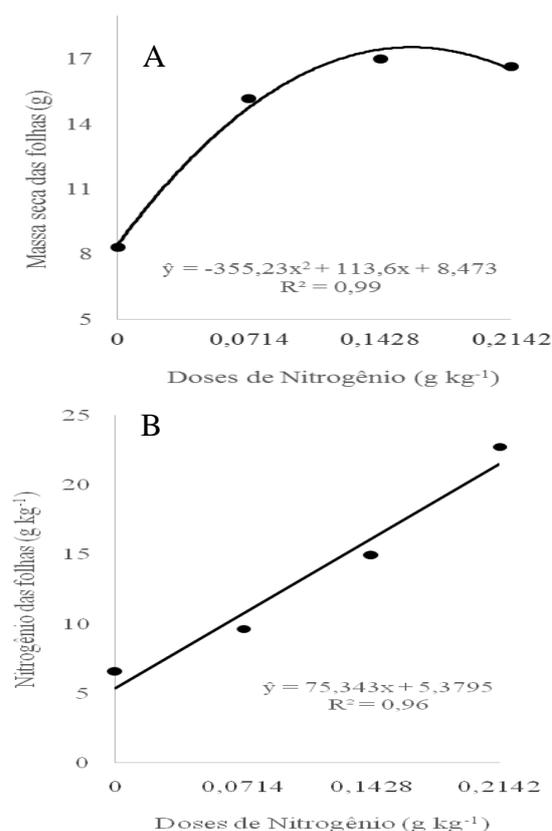


Figura 3 Massa seca (A) e teor de nitrogênio das folhas de plantas híbridas de milho BM 3061 (B), em função de doses de nitrogênio (g kg⁻¹).

No teor de nitrogênio da parte aérea pode-se observar um aumento linear de acordo com a análise de regressão (Figura 3B), esse resultado é atribuído a aplicação crescente de doses de nitrogênio nas plantas de híbrido de milho, na qual favorece o crescimento vegetativo, visto que

o nitrogênio participar do processo de divisão celular.

Melo; Corá; Cardoso (2011) encontraram um aumento na concentração de nitrogênio nas folhas de milho com a elevação das doses de nitrogênio aplicadas. Esse aumento nos teores de nitrogênio nas folhas do milho está relacionando com a alta exigência nutricional da cultura pelo o nutriente.

4 Conclusões

As plantas de milho BM 3061 inoculadas com *Azospirillum brasilense* respondeu positivamente as doses de nitrogênio. Porém a dose que 0,1428 g kg⁻¹ de N foi a que apresentou melhor comportamento, podendo ser indicada para adubação do milho.

Referências

- AQUINO, A. B et al. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado do Ceará**. Fortaleza: UFC, 1993. 248 p.
- BALDOTTO, L. E. B. et al. Initial growth of maize in response to application of rock phosphate, vermicompost and endophytic bacteria. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 262-270, 2012.
- BARTCHECHEN, A. et al. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L.). **Campo Digit@l**, v. 5, n. 1, p. 56-9, dez. 2010.
- BRANDÃO, E. M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. 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. 1-15.
- CUNHA, F. N. et al. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste Goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 3, p. 261-272, 2014.
- 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.
- 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.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A Guide for Its Bootstrap Procedures in Multiple Comparisons. **Ciência Agrotecnologia**, v.38, n. 2, p.109-112, 2014.
- FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. 574p. Jaboticabal: Funep, 2007.
- FUNCEME. **Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos**. Fortaleza, 06 jul. 2017. Disponível em: <<http://www.funceme.br>>. Acesso em: 06 jul. 2017.
- HUNGRIA, M; ARAUJO, R. S. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Embrapa, 542p, 1994;
- 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.
- LI-COR. LI 3100 area meter instruction manual. Lincoln: LICOR, 1996. 34p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2 ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319p.
- MARTINS, A. O. et al. Nitrogen-use efficiency of maize genotypes in contrasting environments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, p. 291-298, 2008.
- MEIRA, F. A. et al. Fontes e épocas de aplicação do nitrogênio na cultura de milho irrigado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 275-284, 2009.
- MELO, F. de B.; CORÁ, J. E.; CARDOSO, M. J. Fertilização nitrogenada, densidade de plantas e rendimento de milho cultivado no sistema plantio direto. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 1, p. 27-31, 2011.
- MODESTO, L. R. et al. Seleção recorrente fenotípica visando à obtenção de uma variedade sintética de milho (*Zea mays* L.). **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 2, p. 20-31, 2014.
- MOTA, M. R. et al. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do

- nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 39, n. 2, p. 512-522, 2015.
- OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. de C.; ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 4, n. 2, p. 226-244, 2011.
- RAMBO, L. et al. Leaf and canopy optical characteristics as crop N status indicators for field nitrogen management in corn. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 173, p. 434-443, 2010.
- REIS JÚNIOR, F. B. et al. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.
- REPKE, R. A. et al. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 3, p. 214-226, 2013.
- RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **Como a planta de milho se desenvolve**. Piracicaba: Potafos, 2003. 20 p. (Arquivo de Agrônomo, 15).
- SCHIAVINATTI, A. F. et al. Influência de fontes e modos de aplicação de nitrogênio nos componentes da produção e produtividade do milho irrigado no cerrado. **Bragantia**, v. 70, n. 4, p. 925-930, 2011.
- SILVA, F. C.; SILVA, M. M. da; LIBADI, P. L. Aplicação de nitrogênio no cultivo de milho, sob sistema plantio direto: efeitos na qualidade física do solo e características agronômicas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3513-3528, 2013.