

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS DE CURITIBANOS  
BRUNA SORGATTO DO AMARAL

**INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM *Azospirillum brasilense*  
ASSOCIADA AO USO DE BIOINDUTORES**

Curitibanos  
2017

**BRUNA SORGATTO DO AMARAL**

**INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM *Azospirillum brasilense*  
ASSOCIADA AO USO DE BIOINDUTORES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para avaliação da disciplina TCC, no Curso de Agronomia, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) *Campus* Curitibanos.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Sonia Purin da Cruz, Ph.D.

Curitibanos  
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Amaral, Bruna Sorgatto do  
INOCULAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM *Azospirillum*  
brasileNSE ASSOCIADA AO USO DE BIOINDUTORES / Bruna  
Sorgatto do Amaral ; orientador, Sonia Purin da Cruz,  
2017.  
46 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus  
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2017.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Zea mays. 3. Bactérias diazotróficas.  
4. Bioindutores. I. Cruz, Sonia Purin da . II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em  
Agronomia. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia  
Rodrigorigues Gaboardi 893  
CP: 131 CEP: 89530-000 - Curitibanos - SC  
TELEFONE 10491 3721-2178 E-mail: agronomia\_cba@ufsc.br

BRUNA SORGATTO DO AMARAL

## **Inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* associada ao uso de bioindutores**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Colegiado do Curso de Agronomia, do Campus Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

**Orientador(a): Profª Drª Sonia Purin da Cruz**

Data da defesa: 20/06/2017

**MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:**

**Presidente e Orientador: Sonia Purin da Cruz**  
Titulação: Ph.D.  
Área de concentração em Microbiologia Ambiental  
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

**Membro Titular: Naiara Guerra**  
Titulação: Doutora  
Área de concentração em Fitotecnia  
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

**Membro Titular: Samuel Luiz Fioreze**  
Titulação: Doutor  
Área de concentração em Produção Vegetal  
Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Local: Universidade Federal de Santa Catarina  
Campus de Curitibanos  
Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelas bênçãos recebidas durante mais esta jornada e por guiar os meus passos em cada fase da minha vida.

A toda minha família, em especial a minha mãe Rosely Aparecida Sorgatto e minha irmã Gabriella Sorgatto do Amaral pelo imenso apoio, compreensão, dedicação e conhecimento passado com muito carinho, fazendo-me cada vez mais ter certeza desta caminhada. A minha vó Iracema Zardo Sorgatto e minha tia Rejane Sorgatto, por me acolherem com tanto carinho e atenção. Aos meus primos Arthur Sorgatto, Otávio Sorgatto e Clara Sorgatto pelos momentos de alegria compartilhados juntos.

Aos meus colegas, em especial à Denise, Saila, Thayse, Samantha, Camila, Sintia, Elaine, Amanda, Carla, Gilmário, Igor, Edson e Gilderlan, pela amizade e por me darem força em todos os momentos de agonia, tristeza e compartilhar os momentos de felicidade, momentos esses que agora mais do que nunca temos certeza que valeram a pena.

Agradecimento em especial a minha orientadora prof. Dra. Sonia Purin da Cruz pela oportunidade de conhecer novas áreas de estudo e por toda sua dedicação, empenho, mostrando sempre a importância de ser uma profissional responsável e dedicada.

A todos os mestres que tive a felicidade de conhecer pela competência, dedicação e conhecimento passado durante esses anos dentro e fora da sala de aula.

A empresa Cultivar por fornecer as sementes e a Total Biotecnologia por fornecer os produtos para serem testados.

## Sumário

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....   | 9  |
| 2 METODOLOGIA .....  | 14 |
| 2.1 LOCALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS .....   | 14 |
| 2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS .....  | 14 |
| 2.2.1 Experimento 1: Avaliação do uso de inoculante e bioindutores na germinação e vigor de sementes de milho. ....                | 14 |
| 2.2.2 Experimento 2: Avaliação do uso de inoculante e bioindutores no desenvolvimento da cultura do milho. ....                    | 20 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....   | 27 |
| 3.1 Experimento 1: Avaliação do uso de inoculante e bioindutores no desenvolvimento da cultura em contexto laboratorial.....       | 27 |
| 3.2 Experimento 2: Avaliação do uso de inoculante e bioindutores no desenvolvimento da cultura do milho em casa de vegetação ..... | 31 |
| 4 CONCLUSÃO .....  | 36 |
| REFERÊNCIAS .....  | 37 |

## RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do uso do inoculante à base de *Azospirillum brasilense* associado ou não ao uso de bioestimulantes de crescimento vegetal na cultura do milho. Foram realizados dois experimentos, um em condições laboratoriais e um em condições de casa de vegetação na Universidade Federal de Santa Catarina, no município de Curitibanos, SC (Latitude: 27° 16' 60" Sul, Longitude: 50° 35' 7" Oeste). Em laboratório foram testados quatro tratamentos: 1) testemunha, 2) inoculação com *Azospirillum brasilense*, 3) bioestimulante Raiz, 4) inoculante e bioestimulante. Avaliou-se o índice de germinação, número de raízes, comprimento da parte aérea e radicular. Já em casa de vegetação foram testados seis tratamentos: 1) testemunha, 2) adubação nitrogenada 3) inoculação com *Azospirillum brasilense*. 4) *Azospirillum brasilense* associado ao bioindutor Raiz 5) *Azospirillum brasilense* associado ao bioindutor Simetria 6) associação dos três produtos. Avaliou-se a produção de massa seca total, N-total da parte aérea, altura e diâmetro. Em nenhum dos experimentos foi observada diferença significativa entre os tratamentos. De acordo com os dados gerados, as indicações técnicas para o uso de inoculante e bioestimulantes ainda precisam ser mais difundidas e melhoradas, para assim poder ser utilizada como uma ferramenta para a produção.

Palavras chave: *Zea mays*, bactérias diazotróficas, bioindutores.

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* associated or not to biostimulants on maize. Two experiments were performed, the first under laboratory conditions and the other under greenhouse conditions at the Universidade Federal de Santa Catarina (USFC), in Curitibanos, SC (Latitude: 27 ° 16 '60' 'South, Longitude: 50 ° 35' 7 ' 'West'). Four treatments were tested in lab: 1) control, 2) inoculation with *Azospirillum brasilense*, 3) biostimulant Raíz 4) inoculant + biostimulant. Assessed parameters included germination index, number of roots, shoot and root length. Under greenhouse conditions, six treatments were tested: 1) control 2) nitrogen fertilization 3) inoculation with *Azospirillum brasilense* 4) *Azospirillum brasilense* associated to the bioindutor Raíz 5) *Azospirillum brasilense* associated to the bioindutor Simetria 6) association of the three products. Total dry mass, plant height and diameter were evaluated. No statistical difference was found among treatments in neither experiment. According to current findings, indications that support the use of inoculant and biostimulants rely on further research in order to be used as a tool for corn production.

Key words: *Zea mays*, diazotrophic bacteria, biostimulants.



## 1 INTRODUÇÃO

O milho apresenta significativa importância econômica no mundo, pois possui variadas formas de utilização, como no consumo humano, alimentação animal, matéria prima para indústria, e diversas outras utilidades que passam tanto pela indústria alimentícia quanto pela indústria agropecuária. Muitos produtores utilizam o milho para fazer rotação de culturas, para melhorar o solo e diminuir a incidência de doenças em outras culturas. Para a alimentação animal, os produtores utilizam não apenas os grãos como também a biomassa vegetal, matéria prima para a silagem dado seu valor nutritivo e da boa produção de massa por unidade de área plantada, assim suplementando a alimentação, para a produção de carne e leite (GARCIA et al., 2006).

O milho é o cereal mais cultivado no Brasil, com cerca de 54,37 milhões de toneladas de grãos produzidos. Os maiores produtores mundiais de milho são os EUA, seguido de China e Brasil. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial do grão, um dos mais importantes produtos no conjunto da agricultura brasileira, uma vez que é produzido em praticamente todas as grandes regiões, e representa cerca de 40% do atual volume produzido de grãos e 28% da área plantada (CONAB, 2016).

Além da sua importância econômica como principal componente na alimentação de aves, suínos e bovinos, o milho é importante para a viabilidade de outras culturas, como a soja e o algodão, por meio da rotação de culturas, minimizando possíveis problemas relativos ao processo do plantio, bem como dando sustentabilidade para diferentes sistemas de produção em muitas regiões agrícolas do Brasil e do mundo (CIB, 2010). Apesar de o milho em grão não ter uma participação relevante para a alimentação humana, através de seus derivados de milho, ele constitui um fator importante no uso desse cereal em regiões com baixa renda (CARVALHO; CRISÓSTOMO; NORONHA, 2010).

O nutriente de maior exigência para a produção do milho é o nitrogênio. Para se produzir 9,20 t de grãos  $ha^{-1}$ , a cultura do milho absorve um total de 185 kg  $ha^{-1}$  de N, onde 138 kg  $ha^{-1}$  são exportados para os grãos e 47 kg  $ha^{-1}$  que se encontram na palhada (COELHO, 2006). A adubação do milho é feita, via de regra, em duas fases, que seriam a adubação de base e de cobertura. A adubação básica é aplicada no sulco, geralmente, ao mesmo tempo da semeadura. Para a adubação de cobertura, recomenda-se fazer a aplicação entre os estágios de V2 e V3, para que a planta tenha nitrogênio disponível na

fase de definição de seu potencial produtivo, que ocorre até V6 ou V8 (COELHO, 2006).

Como o nitrogênio é um dos nutrientes de maior custo para a cultura do milho, sua maior eficiência depende de um manejo que proporcione maior disponibilidade para as plantas. O uso desse nutriente em excesso pode causar sérios riscos ao meio ambiente. Como por exemplo, pode-se citar a desnitrificação, que produz  $N_2O$  e  $NO$  que contribuem para o efeito estufa aquecendo a atmosfera (BASI, 2013). Outro problema existente é a lixiviação, processo em que ocorre a percolação de nitrato no solo, até camadas onde as raízes das plantas não estão presentes, podendo alcançar os lençóis freáticos, rios e lagoas. Nos lagos e rios pode ocorrer a eutrofização, que acarreta na multiplicação excessiva de algas e bactérias que utilizam o nitrato para se desenvolver (PEIXOTO, 1999).

Diante deste cenário, buscam-se novas tecnologias para diminuir os custos de produção, tais como o uso de inoculantes microbianos à base de bactérias fixadoras de nitrogênio. Dentre eles, destacam-se bactérias do gênero *Azospirillum*. Essas bactérias quebram a tripla ligação que existe entre os dois átomos de N, transformando-o em amônia, forma utilizável de nitrogênio. Percebe-se a possibilidade do uso da fixação biológica de nitrogênio para maior contribuição deste elemento, também na cultura de milho, assim como já realizado em outras culturas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Além de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN), estas bactérias produzem fitormônios da classe das auxinas e outras que promovem o crescimento das raízes. Com isto, as plantas conseguem ter uma melhor absorção dos nutrientes do solo, assim, tendo um melhor aproveitamento dos fertilizantes aplicados (REIS JUNIOR; MENDES, 2011).

A tecnologia de inoculação se baseia na capacidade promotora de crescimento do *A. brasilense* pela produção de vários hormônios que estimulam o crescimento das plantas. Essa capacidade está relacionada ao fato dessa bactéria fazer parte de um grupo de bactérias denominadas promotoras de crescimento de plantas (BPCP). Elas promovem o crescimento da planta por diversos mecanismos, que além da fixação de nitrogênio, amplificam a permeabilidade da raiz, melhoram a absorção de minerais, elevam a resistência a condições adversas e atuam na produção de hormônios de plantas, como a auxina, giberelina e citocinina, que estimulam a ramificação da raiz, aumentando a biomassa da parte aérea e da raiz (PERES, 2014).

Segundo Ribeiro (2015), um fator importante na inoculação do milho com *A. brasilense* é o ganho médio de produtividade, comprovado a partir de ensaios realizados nos municípios paranaenses de Londrina e Ponta Grossa, apresentando acréscimo de 24 a 30% nos rendimentos em relação ao controle não inoculado.

Alguns estudos, tanto em casa de vegetação como a campo, revelaram que a inoculação do milho com *A. brasilense* para o milho consiste em uma estratégia promissora para melhorar o crescimento vegetativo e também para aumentar o rendimento de grãos com o uso concomitante de adubos nitrogenados (REIS JUNIOR; MENDES, 2011). Araújo et al. (2014) realizaram um trabalho no estado do Piauí, com duração de dois anos, e observaram que o número de espigas foi maior com o uso de inoculante e a aplicação de 150 kg ha<sup>-1</sup> de N, onde os valores, nos dois anos, para número de espiga foram de 22,5 mil ha. Hungria et al. (2010) realizaram trabalhos em duas localidades no Paraná, um em Londrina e outra em Ponta Grossa, e registraram que o aumento na produção de grãos variou entre 443-823 kg ha<sup>-1</sup> com o uso de *A. brasilense*, em comparação com o tratamento não-inoculado.

Em Santa Catarina, alguns autores testaram a inoculação com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho e não obtiveram resultados significativos. Pandolfo et al. (2012) conduziram dois experimentos, um no município de Canoinhas, e outro em Campos Novos, porém não registraram efeito positivo da inoculação. Em um trabalho a campo no município de Lages, Silva (2012) observou que a inoculação a base de *A. brasilense* e aplicação de nitrogênio mineral não propiciaram incrementos nos rendimentos de grãos. Parizotto e Pandolfo (2013) realizaram um trabalho a campo na Estação Experimental da EPAGRI de Campos Novos, no qual os resultados obtidos demonstram que não houve diferença significativa entre os tratamentos no rendimento e no peso de mil grãos da cultura do milho. Em casa de vegetação, Silva (2013) realizou um trabalho no município de Lages, e registrou que a inoculação a base de *A. brasilense* e aplicação de nitrogênio mineral não propiciaram incrementos na massa seca radicular e de parte aérea.

A aplicação do inoculante em milho tem como método mais utilizado a inoculação via semente, todavia a utilização de fungicidas e inseticidas no tratamento das mesmas pode causar elevada mortalidade das bactérias (REIS, 2015). A mortalidade das bactérias do gênero *Azospirillum*, além de se dar pelo emprego de fungicidas e inseticidas, ocorre também pelo efeito dos micronutrientes aplicados nas sementes.

Deste modo, surge a importância do uso de bioestimulantes ao invés dos inoculantes, que possuem apenas os metabólitos bacterianos ou bactéria morta (SANTOS et al., 2013).

Os bioestimulantes são compostos que alteram a morfologia vegetal e assim, o crescimento e desenvolvimento podem ser promovidos ou inibidos, através da ação de processos fisiológicos da planta. Estes se agrupam em cinco classes principais que são elas: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico. Esses hormônios são produzidos em determinada parte da planta e translocados pra outra, assim, alterando o crescimento e o desenvolvimento (CASTRO; VIEIRA, 2001).

Os bioestimulantes, que podem ser tanto substâncias naturais ou sintéticas, são normalmente oriundos da mistura de dois ou mais biorreguladores vegetais ou destes com outras substâncias (aminoácidos, nutrientes e vitaminas), podem ser aplicados diretamente nas plantas ou em tratamento de sementes, buscando obter maiores produções e melhorias na qualidade das sementes (SANTOS et al., 2013). Os efeitos destas moléculas sobre o crescimento e produtividade de algumas culturas vêm sendo estudados em diversas regiões do país nos últimos anos.

Vieira (2001) realizou um trabalho testando o efeito de diferentes dosagens de Stimulate (que é um promotor de enraizamento a base de citocinina + giberilina + ácido indolacético) nas culturas da soja, feijão e arroz. Quando o produto foi aplicado diretamente sobre as sementes, obteve-se aumentos na produtividade das plantas sendo superior ao controle. Constatou-se nas plântulas de soja que a concentração de 3,5 mL de Stimulate para 0,5 kg de sementes proporcionou a quantidade máxima de plântulas normais, atingindo um incremento de 51,9% com relação ao tratamento controle. No arroz, a concentração de 1,2 mL de Stimulate promoveu o máximo comprimento de coleóptilo das plântulas, de 3,0 cm, superando em 18,0% o comprimento verificado na concentração controle. Já em sementes feijão, observou-se que o crescimento do sistema radicular foi superior a 19,8% para a dose de 5mL de Stimulate.

Dourado Neto et al. (2004), para testar o uso de bioestimulantes a base de citocinina, giberilina e ácido indolcanóico na cultura do milho, realizaram uma pesquisa na qual os resultados demonstraram um aumento significativo para rendimento de grãos. Com a aplicação do produto, o rendimento foi de 6743,06 kg ha<sup>-1</sup>, já o mesmo parâmetro no tratamento testemunha foi de 5644,10 kg ha<sup>-1</sup>.

Com base nestes registros literários, pode-se afirmar que no Brasil existem trabalhos sobre o uso dos bioestimulantes. De acordo com esses estudos, existe um

potencial comercial para o uso destas substâncias. Assim sendo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do uso de inoculante à base de *A. brasilense* associado ou não a de bioestimulantes na cultura do milho.

Dessa forma, duas hipóteses foram testadas: 1) O uso do inoculante isolado ou associado ao bioestimulante resulta em maior porcentagem de germinação, comprimento da parte aérea e radicular em condições laboratoriais; 2) O uso do inoculante isolado ou associado ao bioestimulante resulta no aumento da produção de massa seca total, N-total da parte aérea e crescimento do milho em casa de vegetação.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 LOCALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Dois experimentos foram conduzidos na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no município de Curitibanos – SC, (Latitude 27°17'05", longitude 50°32'04" e altitude 1096 m). O clima da região, conforme a classificação de Köppen, é do tipo Cfb, isto é, mesotérmico úmido com inverno chuvoso e verão ameno, sendo a precipitação média anual 1.479,7 mm, temperatura máxima média de 22,0°C, mínima média de 12,4°C (EMBRAPA, 2006).

### 2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

2.2.1 Experimento 1: Avaliação do uso de inoculante e bioindutores na germinação e vigor de sementes de milho.

A implantação do experimento foi realizada no dia 10 de novembro de 2016, no Laboratório de Microbiologia da UFSC, Campus de Curitibanos. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. A cultivar de milho utilizada foi a NS50 da Nidera, previamente tratadas. Os tratamentos foram estabelecidos segundo a Instrução Normativa nº 57, de 11 de dezembro de 2013 (MAPA) que dispõe sobre protocolos de testes em laboratório.

Foram testados quatro tratamentos: 1) Testemunha; 2) Inoculação com *Azospirillum brasilense*; 3) Aplicação do bioindutor Raiz®; 4) Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação do bioindutor Raiz®. Para o teste de vigor foram utilizadas e oito repetições com 50 sementes cada. Já para avaliar o comprimento da parte aérea e radicular, foram adotadas quatro repetições com 10 sementes cada.

O tratamento 1 foi a testemunha, onde utilizou-se apenas água em rolos de papel, para umedecer as sementes.

No tratamento 2 utilizou-se o inoculante líquido AzoTotal Max®, à base de *A. brasilense*, estirpes Abv5 e Abv6, na concentração de  $2 \times 10^8$  UFC ml<sup>-1</sup>, fornecido pela empresa Total Biotecnologia (Curitiba, PR). Este produto é registrado para

comercialização perante o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (PR-93923 10074-1). Foram pesadas 250 gramas de semente para realizar a inoculação. As sementes foram colocadas em um saco plástico acrescentando-se 0,80 mL do produto. Em conjunto foi adicionado com 3 ml de água para uma melhor cobertura das sementes. O procedimento foi realizado em laboratório no dia da implantação do experimento. As sementes já inoculadas foram colocadas no papel Germitest.

O inoculante Azo Total Max, desenvolvido pela Total Biotecnologia e EMBRAPA, é um inoculante promotor de crescimento nas plantas (Figura 1). Desenvolvido com Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP), essa tecnologia utiliza as bactérias do gênero *Azospirillum*. Bactérias como *A. brasilense* podem trazer ganhos consistentes sem a necessidade de grandes investimentos com fertilizantes químicos, particularmente os nitrogenados. Além disso, o inoculante incrementa a disponibilidade e absorção de nutrientes, melhorando a proteção do cultivo frente a patógenos do solo, promovendo um maior desenvolvimento do sistema radicular e aumentando a produtividade (TOTAL BIOTECNOLOGIA (a), 2017).



**Figura 1.** Embalagem contendo inoculante líquido AzoTotal, produzido pela empresa Total Biotecnologia.

No tratamento 3 utilizou-se o bioindutor Raiz®, um produto em fase de testes pré-comerciais, fornecido pela empresa Total Biotecnologia. Foram pesadas 250 gramas de semente para realizar a inoculação. As sementes foram acondicionadas em um saco

plástico acrescentando 0,80 mL do produto, em conjunto foi adicionado com 3 ml de água para uma melhor cobertura das sementes. O procedimento foi realizado em laboratório no dia da implantação do experimento. As sementes já inoculadas foram colocadas no papel Germitest.

O produto Raiz (Figura 2) encaixa-se, perante o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, na classe de fertilizante bioindutor, e é produzido através da fermentação da bactéria *A. brasilense* (estirpes Abv5 e Abv6). Para produção do mesmo, é ajustada a temperatura, aeração e a concentração de nutrientes necessários para que as bactérias possam produzir mais etileno e auxinas. O produto final não possui os microrganismos vivos, pois após a produção o mesmo é filtrado ou autoclavado para que permaneça apenas o produto gerado da fermentação. O Raiz é um produto indicado para as fases iniciais de desenvolvimento da planta, pois proporciona alto poder de enraizamento para a planta (TOTAL BIOTECNOLOGIA (b), 2017).

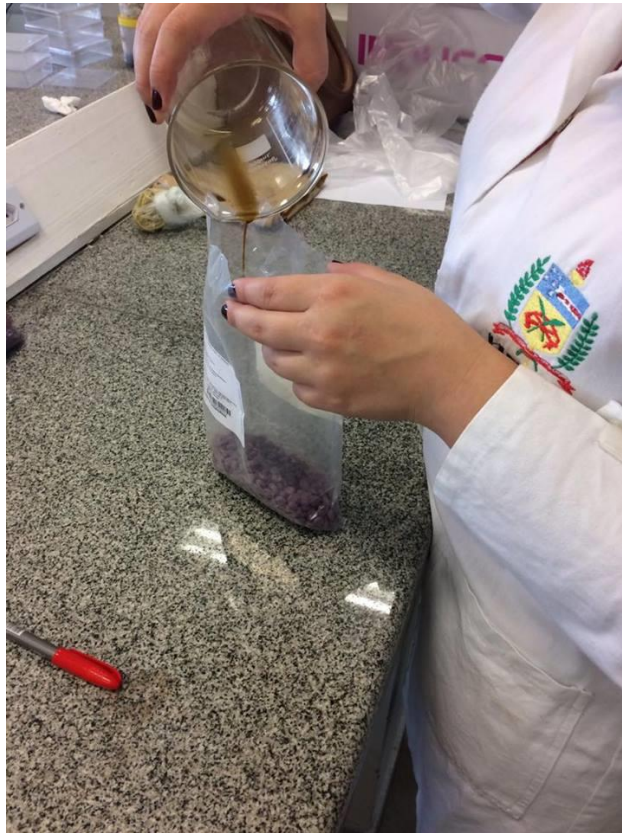


**Figura 2.** Embalagem contendo o bioindutor líquido Raiz, produzido pela empresa Total Biotecnologia.

No tratamento 4 utilizou-se o inoculante AzoTotal Max®, à base de *A. brasilense* associado ao bioindutor Raiz. Foram pesadas 250 gramas de semente para realizar a inoculação. As sementes foram acondicionadas em um saco plástico acrescentando-se 0,80 mL de ambos os produtos, em conjunto foi adicionado com 3 ml



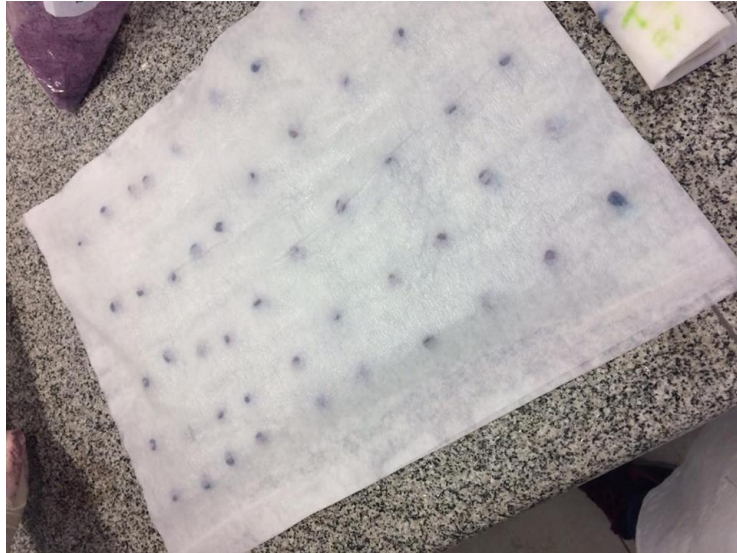
de água para uma melhor cobertura das sementes (Figura 3). O procedimento foi realizado em laboratório no dia da implantação do experimento. As sementes já inoculadas foram colocadas no papel Germitest.



**Figura 3.** Sementes sendo inoculadas com o inoculante Azo Total Max. O produto foi misturado com água e adicionado diretamente sobre as sementes tratadas.

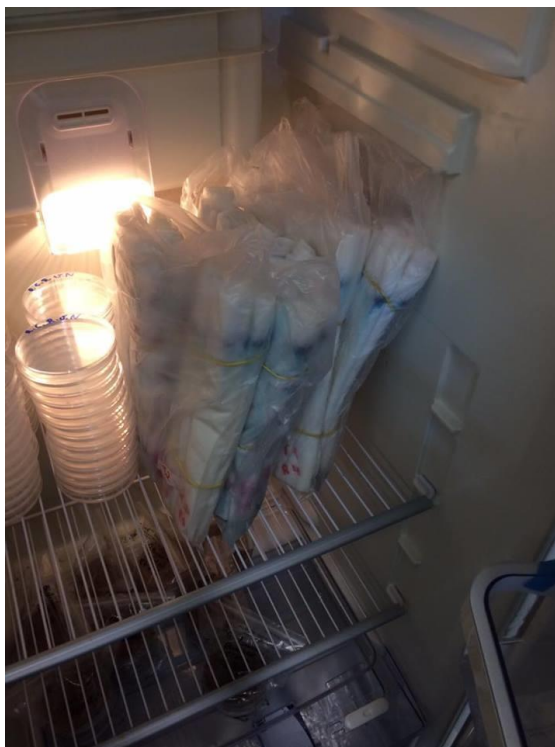
As sementes foram mantidas em rolo de papel Germitest por 8 dias (MAPA, 2013). A primeira análise foi realizada no quarto dia após a implantação, onde foi avaliada a porcentagem de germinação. Para a segunda análise, realizada no oitavo dia, o comprimento da parte aérea e radicular foram medidos e também foi avaliada a porcentagem final de germinação.

Para fazer o rolo de papel Germitest, foram utilizadas três folhas de papel Germitest, duas debaixo das sementes e uma cobrindo-as (Figura 4). O papel foi pesado e umedecido com 2,780L de água, na proporção de 2,5 vezes a massa seca do papel seco. Para cada repetição as sementes foram colocadas no papel já umedecido, sobre uma linha traçada, em cada linha semeou-se as sementes espaçadas 1 cm uma da outra (MAPA, 2013).



**Figura 4.** Sementes de milho inoculadas e acondicionadas em papel Germitest.

Visando uma melhor orientação do crescimento das plântulas, as sementes foram posicionadas com a ponta da radícula para a parte inferior do papel, deixando assim o embrião voltado para cima. Os rolos de papel foram acondicionados em sacos plásticos para manter constante a umidade dos rolos e a câmara incubadora foi regulada a 25°C (Figura 5) (MAPA, 2013).



**Figura 5.** Rolos de papel Germitest contendo sementes de milho, acondicionados na câmara incubadora a 25°C.

Para determinar a porcentagem de germinação, a primeira análise foi realizada no dia 14 de novembro de 2016. Na ocasião, os rolos foram retirados dos sacos plásticos e foi realizada a contagem das plântulas emergidas. A coleta final ocorreu no dia 18 de novembro de 2016. Nela, foi realizada a contagem das plântulas e as mesmas retiradas do papel Germitest. As raízes e a parte aérea foram medidas com uma régua (Figura 6).



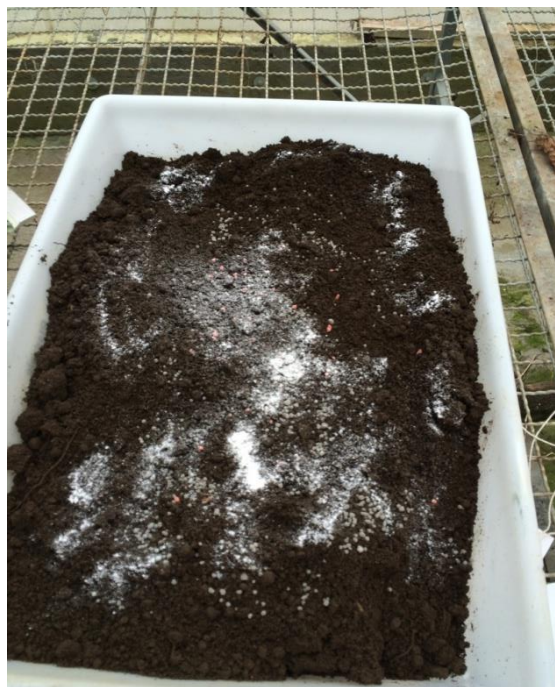
**Figura 6.** Determinação da medida de parte aérea e radicular das plântulas, após oito dias após sua emergência.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, a um nível de probabilidade de 5% com auxílio do Software *Assistat*.

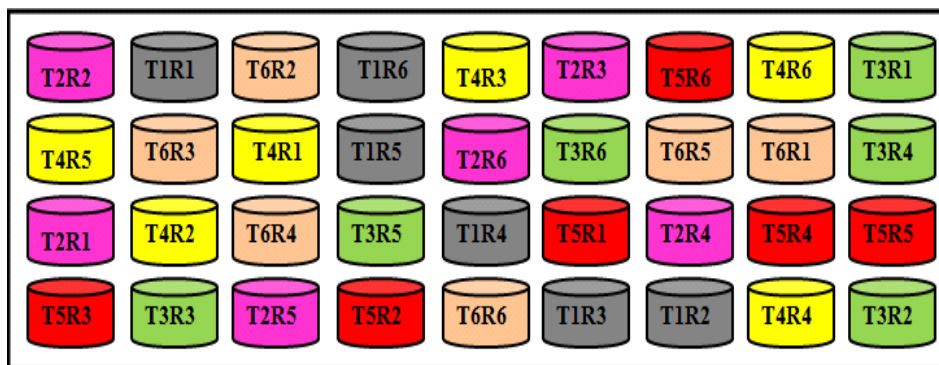
### 2.2.2 Experimento 2: Avaliação do uso de inoculante e bioindutores no desenvolvimento da cultura do milho.

O delineamento experimental adotado no experimento conduzido em casa de vegetação foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições (Figura 7). A cultivar de milho utilizada foi a NS 50 da Nidera, onde as mesmas já vieram tratadas com inseticidas e fungicidas. Os tratamentos foram estabelecidos segundo a Instrução Normativa Nº 30 de 12 de novembro de 2010 (MAPA) que dispõe sobre protocolos de testes em casa de vegetação.

Neste experimento, foram utilizados 36 vasos plásticos, com um volume de 11 litros. Em cada vaso utilizou-se um volume de 10 kg de solo. O solo utilizado foi classificado como Cambissolo húmico alítico léptico, coletado na trilha do Pessegueirinho, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos. Após a coleta o solo foi peneirado e autoclavado, em um ciclo de 50 minutos a 121° em pressão de 1 atm. Após o solo ser autoclavado, no dia 19 de novembro de 2015, foi realizada a correção do solo. Segundo a metodologia de Fioreze (2015)\*, para a adubação de cada vaso foi utilizado a uréia como fonte de N (0,5g), calcário (7,7g), superfosfato triplo (16,23g), e cloreto de potássio (1,16g). Os adubos foram incorporados ao solo colocando o mesmo em uma bandeja para poder misturar homogeneamente todos os adubos (Figura 7).



**Figura 7.** Adubação do solo realizada em bandejas.



**Tratamento 1:** Testemunha

**Tratamento 2:** Adubação N – 100%

**Tratamento 3:** *Azospirillum brasilense*

**Tratamento 4:** *Azospirillum brasilense* + Raiz

**Tratamento 5:** *Azospirillum brasilense* + Simetria

**Tratamento 6:** *Azospirillum brasilense* + Simetria + Raiz

**Figura 8.** Disposição dos vasos com os tratamentos e repetições na casa de vegetação. T: tratamentos; R: repetições.

Foram testados seis tratamentos: 1) Testemunha; 2) Adubação nitrogenada 3) Inoculação com *Azospirillum brasilense*; 4) Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação do bioindutor Raiz®; 5) Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação do bioindutor Simetria®; 6) Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à aplicação dos bioindutores Raiz® e Simetria®.

O tratamento 1 foi a testemunha, onde realizou-se apenas correção e adubação do solo (à exceção da adição de nitrogênio), porém não realizou-se nenhum procedimento de inoculação.

No tratamento 2 utilizou-se 100% de N mineral. O adubo utilizado como fonte de nitrogênio foi a ureia, aplicada na quantidade de 0,5g para cada vaso como adubação de base. Para cada hectare é utilizado em média 150 kg de N.

No tratamento 3 utilizou-se o inoculante líquido AzoTotal Max® (Figura 2; Anexo), à base de *A. brasilense*, estirpes Abv5 e Abv6, na concentração de  $2 \times 10^8$  UFC  $\text{ml}^{-1}$ , fornecido pela empresa Total Biotecnologia (Curitiba, PR). A inoculação das sementes foi feita a sombra no dia da implantação do experimento. As sementes foram homogeneizadas com o inoculante, utilizando-se a dose de 5,31 ml do produto para cada quilo de semente, recomendada pelo fabricante.

No tratamento 4, utilizou-se o inoculante composto por *A. brasilense* associado ao bioestimulante Raiz®, um produto em fase de testes pré-comerciais, fornecido pela empresa Total Biotecnologia. As sementes foram homogeneizadas no dia da implantação do experimento com 5,31 ml de ambos os produtos para cada quilo de semente.

No tratamento 5, utilizou-se o inoculante com *A. brasilense* associado ao bioestimulante Simetria® (Figura 9), um produto em fase de testes pré-comerciais, fornecido pela empresa Total Biotecnologia. As sementes foram homogeneizadas no dia da implantação do experimento com 5,31 ml do *A. brasilense*. O produto Simetria® foi aplicado via pulverização no dia 11 de janeiro de 2016, no estádio V3. Para tanto, o produto foi diluído em água, utilizando-se 200 ml do produto para 150L de água, aplicado por pulverizador manual, homogeneamente sobre as folhas.

O Simetria® encaixa-se na classe de bioindutores, seu principal componente são as auxinas. A obtenção deste produto é realizada de forma semelhante ao Raiz, variando-se as condições de fermentação. O produto final não contém microrganismos, apenas os metabólitos bacterianos. A principal função do Simetria® é regular e desencadear o processo de produção hormonal da planta, assim favorecendo a expressão máxima do seu potencial genético resultando em plantas mais vigorosas, uniformes e produtivas (TOTAL BIOTECNOLOGIA (c), 2017).



**Figura 9.** Embalagem contendo o bioindutor líquido Simetria, produzido pela empresa Total Biotecnologia.

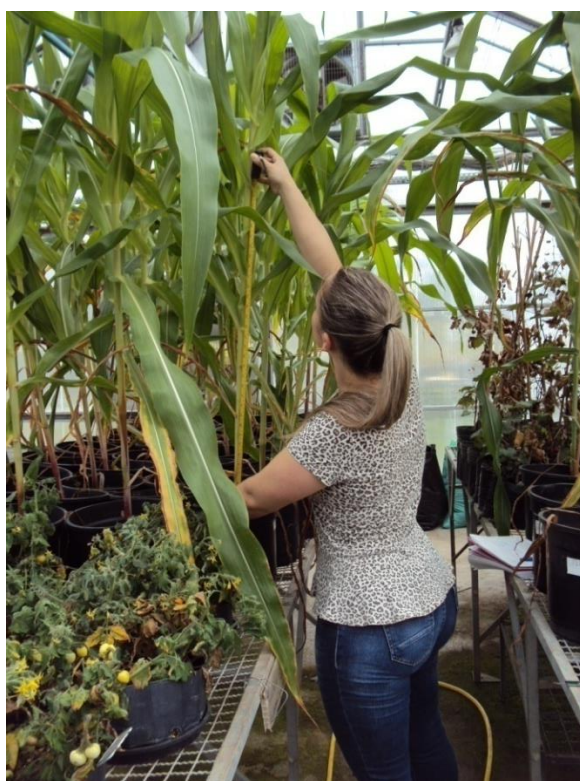
No tratamento 6, foi realizada a associação dos três produtos (*A. brasilense* +Raiz®+Simetria®). Os procedimentos foram realizados conforme os métodos dos tratamentos 3 a 5, descritos anteriormente.

A semeadura foi realizada manualmente no dia 19 de dezembro de 2015, e foram utilizadas três sementes por vaso (Figura 10). Após 19 dias realizou-se o raleio, deixando-se apenas uma planta por vaso. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 67 dias.



**Figura 10.** Visão geral dos vasos após ser realizado o raleio, deixando-se apenas uma planta por vaso.

A altura de parte aérea (cm) foi medida com uma trena a partir da superfície do solo até a bainha da última folha totalmente expandida (Figura 11). Este parâmetro foi determinado aos 23, 40, 55 e 67 dias após a emergência (DAE). O diâmetro do colmo (mm) foi determinado no dia 22 aos 66 DAE com um paquímetro digital (Figura 12).



**Figura 11.** Determinação da altura da parte aérea, realizada através de uma trena a partir da superfície do solo até a bainha da última folha totalmente expandida, aos 67 DAE.





**Figura 12.** Determinação de diâmetro do colmo da cultura do milho, determinado através de um paquímetro digital, aos 67 DAE.

A coleta do experimento foi realizada dia 23 de fevereiro de 2016 aos 67 DAE. Inicialmente, as plantas foram cuidadosamente separadas do solo. As raízes foram separadas da parte aérea através do corte das plantas na região do colo, e lavadas em água corrente. Após a lavagem, a parte aérea e raízes foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar, mantendo-se a temperatura na faixa de 65–70°C. O tempo de secagem foi determinado por pesagens das amostras até atingir-se massa constante. Após a secagem, cada amostra foi pesada em balança semi-analítica para estimativa da massa seca acumulada na parte aérea e raízes (Figura 13).



**Figura 13.** Pesagem em balança semi-analítica das amostras de raízes após serem acondicionadas em estufa de circulação forçada de ar.

A determinação do teor de N-total da parte aérea ( $\text{mg N planta}^{-1}$ ) foi realizada aos 67 DAE. Para esta análise, foi retirado o terço central da última folha totalmente expandida (Figura 14). Este material foi acondicionado em sacos de papel e colocado para secar em estufa de circulação forçada de ar, mantendo-se a temperatura na faixa de 65–70°C. Após a secagem, o material vegetal foi finamente moído para determinar o N total de acordo com o método de Kjeldal, pelos processos de digestão sulfúrica, destilação e titulação (TEDESCO, 1995).



**Figura 14.** Folhas divididas em três partes iguais, sendo que o terço central de cada folha foi acondicionado em sacos de papel e colocado para secar em estufa de circulação forçada de ar para determinar o teor de N-total.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), pelo teste F a um nível de probabilidade de 5% com auxílio do Software *Assistat*.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Experimento 1: Avaliação do uso de inoculante e bioindutores no desenvolvimento da cultura em contexto laboratorial

Na Tabela 1, apresenta-se o resultado do teste de vigor nos quatro tratamentos de inoculação, em contagem aos quatro e oito dias, sendo que não houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste F a 5% de probabilidade. Portanto, não ocorreu influência de nenhum dos tratamentos testados na germinação das sementes de milho.

**Tabela 1-** Teste de vigor de sementes de milho em diferentes tratamentos, com o uso de inoculante e bioestimulantes em condições laboratoriais.

|   | <b>Vigor (%)</b> | <b>Porcentagem final de germinação (%)</b> |
|---|------------------|--|
| <b>Testemunha</b>                               | 92 ns*           | 98 ns*                                     |
| <i>Azospirillum brasilense</i>                  | 94               | 98   |
| <b>Raiz</b>                                     | 92               | 96   |
| <i>Azospirillum brasilense</i> +<br><b>Raiz</b> | 92               | 98   |
| <b>CV (%)</b>                                   | 4,57             | 1,91                                       |
| <b>DMS</b>                                      | 2,26             | 1,03                                       |

\*ns =Médias não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram encontrados por Dartora et al. (2013), que também não observaram influência do tratamento de sementes de milho com *A. brasilense* para vigor e germinação. Para Araújo et al. (2014), a porcentagem de germinação com a inoculação de *A. brasilense* não diferiu estatisticamente do controle, apresentando 93% o tratamento com inoculação e 96% a testemunha. Os autores relatam, igualmente, que quando se trata de microrganismos diazotróficos associativos, nem sempre são observadas diferenças entre aqueles tratamentos inoculados. Souza et al. (2014) também não verificaram diferença entre os tratamentos e a testemunha (sem inoculação de *A. brasilense*) para o parâmetro germinação, com médias de 93% de germinação em sementes inoculadas e 92,5% para a testemunha.

Apesar da inoculação de sementes com *A. brasilense* ser responsável por promover incrementos em plântulas, principalmente durante o estágio inicial de desenvolvimento, a germinação nem sempre pode ser observada essa propriedade nos tratamentos inoculados. O resultado evidencia que não houve efeito da interação entre a cultura do milho e a bactéria. Segundo Dartora et al. (2013) essas interações dependem das variações genotípicas de cada planta e dos microrganismos envolvidos nessas associações.

Martins (2014) avaliou a germinação do milho em resposta ao uso de bioestimulantes (Cellerate e Stimulate) e a associação dos bioestimulantes à inoculação com *A. brasilense*, sendo que ambos não apresentaram diferenças significativas referentes à testemunha. Ferreira et al. (2007) também não observaram efeitos significativos para essa variável em tratamentos com bioestimulante, apresentando uma média de germinação de 92% para o tratamento com Stimulate e 91% para a testemunha.

O uso do produto é baseado no fato que, dentro da planta, ele é transportado e é responsável por ativar reações fisiológicas (CASTRO et al., 2007). O resultado sugere que em condições laboratoriais não houve essa interação entre a cultura e a bactéria.

A variável germinação não é afetada pelo uso de bioestimulantes na cultura do milho. De acordo com Weber (2011), o fato de o teste de germinação ser realizado em condições ótimas de laboratório pode ter contribuído para a ausência de efeito do produto neste experimento.

A Tabela 2 apresenta as médias de comprimento da parte aérea e radicular, submetidas aos diferentes tratamentos de inoculação em laboratório. Para a variável comprimento da parte aérea, a testemunha apresentou a maior média quando comparada aos demais tratamentos, que não diferiram entre si estatisticamente.

**Tabela 2-** Médias de comprimento da parte aérea e radicular de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos de inoculação em laboratório.

|   | <b>Comprimento da<br/>parte aérea<br/>(cm)</b> | <b>Comprimento<br/>radicular<br/>(cm)</b> |
|---|--|---|
| <b>Testemunha</b>                               | 12,10 a*                                       | 11,59 a                                   |
| <i>Azospirillum brasilense</i>                  | 10,37 b  | 8,16 b                                    |
| <b>Raiz</b>                                     | 9,34 b   | 10,91 a                                   |
| <i>Azospirillum brasilense</i> +<br><b>Raiz</b> | 10,02 b  | 10,44 a                                   |
| <b>CV (%)</b>                                   | 9,22   | 9,89                                      |
| <b>DMS</b>                                      | 1,54   | 1,63                                      |

\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Bueno, Soares e Arisi (2015) também não observaram crescimento significativo em altura de parte aérea quando utilizou-se tratamento com bactérias diazotróficas. Resultados diferentes foram encontrados por Brzezinski et al. (2017), onde as médias de comprimento da parte aérea inoculadas com *A. brasilense* diferiram estatisticamente em relação a testemunha, com valor médio de 4,46 cm de incremento para o tratamento inoculado e 4,34 cm para a testemunha.

Conceição et al. (2008) observaram resultado diferente em relação a inoculação com bactérias diazotróficas em sementes de milho para essa variável. O desenvolvimento da parte aérea das plantas, quando inoculadas, aumentou, apresentando um valor médio de 606,7 mg, enquanto a média referente a testemunha apresentou 431,4 mg em comprimento de parte aérea.

Nos tratamentos em que foi utilizado o bioindutor Raiz, tanto associado ao *A. brasilense* quanto isolado, não se obtiveram os resultados esperados, não atingindo médias maiores que a da testemunha. Esta observação é diferente do que foi encontrado em literatura por Rodrigues et al. (2015), onde o comprimento de parte aérea foi influenciado pelas doses do bioestimulante Stimulate, proporcionando um incremento de 5,07 cm no comprimento de parte aérea. De Oliveira et al. (2011) também avaliaram essa variável para o uso de doses do metabólito secundário Alantoína (hormônio de crescimento) obtendo diferenças significativas. O tratamento com a aplicação de 0,001 mL L<sup>-1</sup> resultou em valores de 8,96 cm de comprimento de parte aérea, que não se

diferenciou da testemunha (9,36 cm). Os demais tratamentos (0,01; 0,1; 1,0 mL L<sup>-1</sup>) reduziram significativamente o crescimento inicial da parte aérea das plântulas.

Na variável comprimento radicular, o tratamento com *A. brasilense* não apresentou diferença estatística. Resultados diferentes são encontrados em literatura. Santos, Perin e Monteiro (2015) observaram a influencia da inoculação com bactérias da espécie *Azospirillum brasilense* e bioestimulante enraizador na cultura do milho, onde também verificaram que as maiores médias de comprimento radicular foram expressas quando não houve inoculação com *Azospirillum* e com a dose normal de enraizador, definindo assim que o bioestimulante favoreceu o desenvolvimento do sistema radicular.

Ceccato Junior, Guimarães e Suss (2016) verificaram efeito significativo da inoculação com *A. brasilense* no comprimento de raiz, sendo o valor médio de comprimento de raiz de plantas inoculadas 56,07 cm e 38,39 cm para não inoculadas.

Resultados encontrados por Conceição et al. (2008) revelam que o uso do tratamento com *A. brasilense* aumentou o comprimento radicular em 44% em relação a testemunha. Já para Cotrim, Alvarez e Seron (2016), o comprimento de raiz da inoculação com *A. brasilense* não diferiu estatisticamente com a testemunha, atingindo comprimentos médios de 12,71 cm para a testemunha e 12,27 cm para o tratamento com *A. brasilense*.

Segundo Pereira (2014), os genótipos também sofrem interferência nos resultados. Este autor verificou que os híbridos AG7098 e 2B707 apresentaram incremento significativo de matéria seca da parte radicular, de 113,65% e 17,74%, respectivamente, na presença de *A. brasilense*.

Martins et al. (2016) verificaram que o uso de bioestimulante composto pelo complexo GZA, formado por glicina betaína (que protege células, proteínas, e enzimas de estresse ambiental), zeatina (hormônio do grupo das citocininas com atuação na germinação, divisão e crescimento celular) e ácidos orgânicos, húmicos e fúlvicos, não influenciou no comprimento das raízes de milho, atingindo média de 25,1 cm para o tratamento com bioestimulante e 32,9 cm para a testemunha.

O fato de não ter-se sido atingido o resultado esperado no tratamento com o *Azospirillum brasiliense* pode estar relacionado à mortalidade das bactérias, pois quando inoculadas ou pulverizadas, nem todas as células de *A. brasilense* sobrevivem. Grande parte, até mesmo toda a população, pode se extinguir.

A sobrevivência das bactérias do gênero *Azospirillum brasilense* é baixa, a mesma não tem capacidade de sobreviver a períodos prolongados de tempo no solo. A temperatura ótima para seu desenvolvimento varia entre 28 e 41°. Assim, alguns aspectos vão afetar diretamente a sobrevivência da bactéria, como a ausência da planta hospedeira, textura do solo, matéria orgânica, capacidade de retenção de água, se os níveis de carbono e nitrogênio solo não forem favoráveis ao seu desenvolvimento (BASHAN et al., 1995).

### 3.2 Experimento 2: Avaliação do uso de inoculante e bioindutores no desenvolvimento da cultura do milho em casa de vegetação

No experimento em casa de vegetação as variáveis médias de altura (Tabela 3), diâmetro, massa seca da parte aérea e raiz e N-total (Tabela 4) em plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos de inoculação não diferiram entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

**Tabela 3-** Médias de altura (cm) em diferentes estádios de desenvolvimento das plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos de inoculação.

| TRATAMENTO  | 23 DAE    | 40 DAE    | 55 DAE    | 67 DAE    |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Testemunha</b>                                   | 18,86 ns* | 42,56 ns* | 60,06 ns* | 91,26 ns* |
| <b>Adubação Nitrogenada</b>                         | 15,85     | 43,58     | 63,74     | 95,00     |
| <i>Azospirillum brasilense</i>                      | 13,65     | 41,06     | 56,58     | 84,20     |
| <i>Azospirillum brasilense</i> +<br><b>Raiz</b>     | 15,68     | 44,63     | 62,86     | 83,24     |
| <i>Azospirillum brasilense</i> +<br><b>Simetria</b> | 16,23     | 39,41     | 56,30     | 88,12     |
| <b>A.brasilense+Raiz+Simetria</b>                   | 15,03     | 38,60     | 59,44     | 86,30     |
| <b>CV (%)</b>                                       | 14,04     | 16,78     | 12,88     | 15,73     |
| <b>DMS</b>  | 3,31      | 10,04     | 10,77     | 11,71     |

\*ns =Médias não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

**Tabela 4-** Médias de diâmetro, massa seca da parte aérea e raiz de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos de inoculação.

| <b>Tratamentos</b>                                  | <b>Diâmetro (mm)</b> | <b>Massa seca de raiz (g/planta)</b> | <b>Massa seca da parte aérea (g/planta)</b> | <b>N total (g de N/kg de massa seca)</b> |
|---|----------------------|--------------------------------------|---|--|
| <b>Testemunha</b>                                   | 20,76ns*             | 86,15ns*                             | 47,97ns*                                    | 13,6ns*                                  |
| <b>Adubação Nitrogenada</b>                         | 19,84                | 100,16                               | 50,49                                       | 13,7                                     |
| <i>Azospirillum brasilense</i>                      | 20,05                | 75,89                                | 41,22                                       | 16,7                                     |
| <i>Azospirillum brasilense</i> +<br><b>Raiz</b>     | 18,76                | 72,68                                | 48,54                                       | 15,1                                     |
| <i>Azospirillum brasilense</i> +<br><b>Simetria</b> | 18,28                | 114,22                               | 44,32                                       | 9,2                                      |
| <b>A.brasilense+Raiz+Simetria</b>                   | 20,66                | 96,61                                | 46,62                                       | 14,9                                     |
| <b>CV (%)</b>                                       | 9,86                 | 46,19                                | 15,76                                       | 31,26                                    |
| <b>DMS</b>  | 2,72                 | 37,81                                | 10,25                                       | 3,75                                     |

\*ns =As médias não diferem entre si pelo teste F, a 5% de probabilidade.

A altura de plantas não diferiu entre os tratamentos pelo teste de Duncan. Este resultado é coincidente com o encontrado por Dartora et al.(2013), em que a altura de planta não foi influenciada pelo uso de *A. brasilense*. Observou-se valores médios de 141,7 e 246,6 cm nas fases vegetativa e reprodutiva, respectivamente. Porém foi verificado efeito positivo da adubação nitrogenada sobre a altura da planta, observando-se valor médio na fase vegetativa de 147,42 cm.

Santos et al. (2013) obsevaram que a altura de plantas de milho não foi afetada pela aplicação dos produtos bioestimulantes em função de diferentes doses. Cunha et al. (2016) também não encontraram resposta significativa para a altura das plantas ao efeito de bioestimulante Stimulate, obtendo-se valor médio entre as doses de bioestimulante em 1,19 m. Martins et al. (2016) também não observaram influência do uso de bioestimulante sobre a variável altura.

Neste estudo, não foram obtidos resultados positivos para o uso do tratamento com bioestimulante, assim como relatado em literatura. De acordo com Martins et al. (2016) provavelmente não foi efetuada a ativação de rotas metabólicas do processo de divisão celular, aumento no volume e diferenciação celular para a cultura do milho.



A variável diâmetro também não foi influenciada pela inoculação aos diferentes tipos de tratamento, porém resultados diferentes são sugeridos pela literatura. Dartora et al. (2013) evidenciaram efeito na inoculação por *A. brasilense* sobre o diâmetro basal do colmo do milho nas fases vegetativa e reprodutiva, proporcionando maior diâmetro basal em relação a testemunha de 15% na fase vegetativa.

Diferente do encontrado em literatura, os resultados obtidos não atingiram o resultado esperado, provavelmente em razão que cada genótipo difere em resposta à inoculação (Garcia de Salomone et al., 1996). Segundo Reis et al. (2000), existe um consenso em que as estirpes e o genótipo da cultivar são fatores determinante para obtenção de respostas. Diferentes estirpes da bactéria *Azospirillum* comportam-se distintamente conforme sua adaptação às condições em que é mantida, apresentando melhor crescimento quando isoladas de uma mesma região e de uma mesma espécie daquela que será utilizada.

Maiores diâmetros em relação à testemunha foram encontrados por Dourado Neto et al. (2014), onde os tratamentos que receberam bioestimulante (média de 1,94 cm) obtiveram um aumento significativo em relação a testemunha com média de 1,67 cm.

Os resultados diferentes do que o encontrado no presente trabalho indicam a ausência de efeito para a variável diâmetro para o tratamento com bioestimulante.

Na variável massa seca de raiz, a ausência de respostas à inoculação de sementes de milho com *Azospirillum* também é encontrada na literatura. Moraes et al. (2015) relatam que o acúmulo de massas de matéria fresca e seca do sistema radicular e seu volume não foram afetados pelas doses de inoculante. Já para o tratamento onde foi atribuído apenas adição de fertilizante nitrogenado ao solo, a dose equivalente a 100 kg ha<sup>-1</sup> de N promoveu maior crescimento de parte aérea resultando em maiores médias de altura (30,01 cm), diâmetro do colmo (14,76 mm) e massa fresca e seca (78,80 g e 7,46 g, respectivamente).

Resultados obtidos no presente estudo são contraditórios aos encontrados em literatura, fato que provavelmente está relacionado a características genéticas da planta (KLUGE, 2016) e das estirpes (HUNGRIA et al. 2011).

Della Libera (2010) não encontrou diferença significativa para o uso de bioestimulante em relação à testemunha na variável massa seca da raiz, com médias de 39,6 g para o tratamento onde foi utilizado bioestimulante e 50,1 g para a testemunha.

Assim como encontrado em literatura, o resultado para a variável massa seca da raiz em tratamento por bioestimulante não foi satisfatório. A resposta para os bioestimulantes varia muito com a cultivar que está sendo utilizada. Enquanto algumas espécies respondem enraizando muito bem, outras podem enraizar pouco. Essa divergência ocorre, pois cada material possui um balanço hormonal (concentrações e fontes hormonais), gerando uma resposta diferente (RODRIGUES et al., 2015).

A variável massa seca da parte aérea também não diferiu entre os tratamentos, assim como encontrado em literatura. Marini (2012) não observou variância significativa entre a inoculação com *A. brasilense* em relação a testemunha, com médias de 169,97 g para a inoculação e de 161,15 g para a testemunha. Já Dartora et al. (2012) evidenciaram efeitos negativos ao tratamento com *A. brasilense*, o qual atingiu média de 10527,8 kg ha<sup>-1</sup> enquanto a testemunha atingiu uma média de 10753,2 kg ha<sup>-1</sup>.

A partir dos resultados observados pode-se considerar uma provável falta de interação ótima entre a planta e o inoculante. De acordo com Fonseca (2014) a interação planta-inoculante pode estar relacionada a fatores da própria bactéria, como a escolha da estirpe, o número ideal de células e sua viabilidade.

Vasconcelos (2006) relata que o peso da matéria seca de parte aérea não foi incrementado com a aplicação das doses de bioestimulante utilizadas. Já Ferreira (2006) observou que a massa seca da parte aérea foi maior em plântulas oriundas de sementes tratadas com o fertilizante Cellerate (0,0453 g) e com o bioestimulante Stimulatte (0,0434 g) em relação a testemunha com 0,0409 g.

Os diferentes resultados encontrados em literatura constataam que respostas positivas irão depender da interação entre a cultura e o bioestimulante, o que não foi evidente no presente estudo. Provavelmente isto está ligado a características genéticas do milho, pois algumas variedades podem ter um melhor desenvolvimento e outras não.

Na variável nitrogênio total não foi observada diferença entre os tratamentos. Resultado semelhante foi encontrado por Basi (2013) onde o tratamento inoculado com *A. brasilense* apresentou uma média de 42,37 g kg<sup>-1</sup> não diferindo significativamente da testemunha que apresentou média de 41,45 g kg<sup>-1</sup>. Para Bassani, Braccini e Piccinin (2015), o teor foliar de nitrogênio apresentou uma média de 50,5 g kg<sup>-1</sup> em função da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, enquanto o tratamento não inoculado apresentou média de 35,2 g kg<sup>-1</sup>.

O uso de bioestimulantes também não influenciou essa variável, assim como em resultados encontrados por Ferreira et al. (2013). A testemunha atingiu média de 8,44 g

kg<sup>-1</sup>, enquanto o tratamento com uso de reguladores vegetais atingiu média de 8,51 g kg<sup>-1</sup>.

O uso de bioestimulantes possui ação similar aos grupos de hormônios vegetais. É possível que, se não ocorrer nenhum estresse com a planta e as condições de fertilidade estiverem adequadas, sendo mantidos os níveis de equilíbrio hormonal natural da planta, ela provavelmente possuirá capacidade de se desenvolver sem o uso dos bioestimulantes, não respondendo, desta maneira, à aplicação dos mesmos.

De acordo com Almeida et al. (2009), o tratamento de sementes com inoculação de *Azospirillum brasilense* ativa várias reações fisiológicas, como a expressão de proteínas, que interagem com vários mecanismos de defesa permitindo que a planta suporte melhor as condições adversas do meio ambiente. Entretanto, para obter resultados mais concisos seria necessário acompanhar a cultura até o final de seu ciclo, pois de acordo com Reis (2007), os efeitos proporcionados por estes microrganismos são derivados de alterações morfológicas e fisiológicas nas raízes das plantas inoculadas, acarretando incremento na absorção de água e nutrientes.

Evidencia-se que para melhor resultado dos efeitos do *A. brasilense* à campo, deveria ser realizado um acompanhamento da cultura até o final de seu ciclo para que potenciais diferenças sejam detectadas. Registros de outros autores suportam esta possibilidade.

Cavallet et al. (2010) avaliaram a produtividade, a partir da inoculação com o produto Graminante, a base de *Azospirillum spp.* Foi obtido um aumento significativo na produtividade de grãos de milho, entretanto não houve efeito na variável altura da planta.

Assim, percebe-se que pode haver efeito da aplicação da bactéria *Azospirillum spp.* e/ou metabólitos no rendimento das culturas, (ANDRADE et al., 2016) apesar de não observarem-se efeitos no desenvolvimento vegetativo, a exemplo do ocorrido no presente trabalho.

#### **4 CONCLUSÃO**

O uso da inoculação isolada ou associada com o uso dos bioestimulantes não influencia de maneira positiva a cultura do milho em sua fase inicial de desenvolvimento. Sendo assim, a recomendação do uso desses produtos ainda necessita de testes adicionais, levando-se em conta fatores com os genótipos, condições climáticas, nutricionais, fitossanitárias e a região produtora do Brasil.

Também é necessário buscar e estudar novas estirpes e formulações de inoculantes aumentando assim a eficiência do produto e diminuindo as doses de adubos nitrogenados, aumentando assim o rendimento da cultura. Sugere-se também que sejam realizados testes a campo para avaliar o efeito do inoculante isolado e associado ao uso de bioestimulantes a fim de obter mais resultados utilizando essa tecnologia.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, A.t. et al. Produtividade de Milho em Função da Redução do Nitrogênio e da Utilização de *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Belo Horizonte, v. 15, n. 2, p.229-239, 30 ago. 2016. Disponível em: <<http://www.bibliotekevirtual.org/index.php/2013-02-07-03-02-35/2013-02-07-03-03-11/1982-rbms/v15n02/20301-produtividade-de-milho-em-funcao-da-reducao-do-nitrogenio-e-da-utilizacao-de-azospirillum-brasilense.html>>. Acesso em: 06 jun. 2017.

ALMEIDA, A. S. et al. Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 87-95. 2009.

ARAÚJO, R. M. et al. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p.1556-1560, 2014.

ARAÚJO, É .O. et al. Qualidade de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com bactérias diazotróficas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias – Brazilian Journal Of Agricultural Sciences**, Recife, v. 9, n. 2, p.159-165, 30 jun. 2014. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/108692/1/Araujo-et-AGRARIA.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2017.

BASSANI, F., BRACCINI, A. L., PICCININ, G.G. **Avaliação de características agrônômicas da cultura do milho (*Zea mays L.*) associado a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, diferentes doses de nitrogênio e biorregulador**. Encontro anual de iniciação científica, 24., 2015, Maringá. Universidade Estadual de Maringá, 2015. 4 p. Disponível em: <<http://www.eaic.uem.br/eaic2015/anais/artigos/758.pdf>>. Acesso em: 27 maio 2017.

BASHAN, Y. et al. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soiltypes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p.1938-1945, 1995.

BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. 50 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do

Centro-Oeste, Programa de Pós - Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, 2013.

BRZEZINSKI, C. R. et al. **Doses de nitrogênio e inoculação com *azospirillum* na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de trigo.** Universidade Estadual de Londrina. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/114615/1/Doses-de-nitrogenio-e-inoculacao-com-azospirillum-na-qualidade-fisiologica-e-sanitaria-de-sementes-de-trigo.PDF>>. Acesso em: 22 maio 2017.

BUENO, J. C. F; SOARES, C. R. F. S; ARISI, A. C. M. **Interação entre a bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* cepa SmR1 e o milho (*Zea mays* L.) cultivar DKB 390 nos estádios iniciais do desenvolvimento vegetal.** 2015. Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em: <[https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/159687/JESSICA\\_CAVALHEIRO FERREIRA BUENO.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/159687/JESSICA_CAVALHEIRO FERREIRA BUENO.pdf?sequence=1)>. Acesso em: 22 maio 2017.

CASTRO, P. R. C. et al. Análise da atividade reguladora de crescimento vegetal de tiametoxam através de biotestes. Revista UEPG, Ponta Grossa, v. 13, n. 1, p. 25-29, 2007.

CARVALHO, R. O; CRISÓSTOMO, R. P.; NORONHA, C. M. S. **Análise de Custo e Produtividade:** Milho Transgênico X Milho Convencional. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28., 2010, Goiânia. Artigo. Goiânia: Abms, 2010. p. 3347 – 3354.

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**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p.129-132, abr. 2000. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-43662000000100024>. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-43662000000100024](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662000000100024)>. Acesso em: 06 jun. 2017.

CECCATO JUNIOR, R.; GUIMARÃES, V.F.; SUSS, A.D. Encontro anual de iniciação científica, tecnológica e inovação, 2., 2016, Marechal Cândido Rondon. **Fertilização com sulfato de magnésio na cultura do milho submetido á inoculação de *Azospirillum brasilense***. Cascavel: Unioeste, 2016. 5 p.

CIB. **Guia do milho**: tecnologia do campo a mesa. 2010. Disponível em: <<http://cib.org.br/wp-content/uploads/2011/10/GuiaMilhoSet2010.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2017.

COELHO, A.M. **Nutrição e Adubação do Milho**. Sete Lagoas: Editoração Eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa, 2006. 10 p.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Análise dos custos de produção e rentabilidade da cultura do milho**. Compêndio de Estudos Conab / Companhia Nacional de Abastecimento. v. 1. 2016. Brasília: Conab, 2016. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_10\\_26\\_09\\_38\\_37\\_compendio\\_de\\_estudos\\_conab\\_-\\_volume\\_3,\\_2016.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_10_26_09_38_37_compendio_de_estudos_conab_-_volume_3,_2016.pdf)>. Acesso em: 28 out. 2016.

CONCEIÇÃO, P. M. et al. Recobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Campos dos Goytacazes, RJ, v.43, p.545- 548. 2008.

CASTRO, P.R.C.; VIEIRA, E.L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 132p.

COTRIM, M. F.; ALVAREZ, R. C. F.; SERON, A. C. C.. Qualidade fisiológica de sementes de trigo em resposta a aplicação de *Azospirillum brasilense* e ácido húmico. **Brazilian Journal Of Biosystems Engineering**. Chapadão do Sul, p. 349-357. out. 2016.

CUNHA, R. C. et al. Ação de bioestimulante no desenvolvimento inicial do milho doce submetido ao estresse salino. **Irriga: Irrigação**, Botucatu, edição especial, p.191-216, ago. 2016.

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**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p.1023-1029, 28 jun. 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v17n10/01.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2017.

DARTORA, J. et al. **Resposta do Milho à Inoculação Combinada com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* Associada à Adubação Nitrogenada**. 2012. CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Disponível em: <[http://www.abms.org.br/29cn\\_milho/06580.pdf](http://www.abms.org.br/29cn_milho/06580.pdf)>. Acesso em: 27 maio 2017.

DE OLIVEIRA, A. L. T. et al. **Efeito do extrato de confrei na germinação e vigor de semente de milho**. 2011. Fortaleza: Resumos do Congresso Brasileiro de Agroecologia, 7. Disponível em: <<http://www.aba-agroecologia.org.br/revistas/index.php/cad/article/view/12038/8426>>. Acesso em: 27 maio 2017.

DELLA LIBERA, A. M. **Efeito de bioestimulantes em caracteres fisiológicos e de importância agrônômica em milho (*Zea mays L.*)**. 2010. 61 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2010. Disponível em: <[http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/705/Efeito Bioestimulantes em caracteres fisiológicos e de importância agrônômica em milho.pdf?sequence=1](http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/705/Efeito_Bioestimulantes_em_caracteres_fisiologicos_e_de_importancia_agronomica_em_milho.pdf?sequence=1)>. Acesso em: 22 maio 2017.

DOURADO NETO, D. et al. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2004.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2 ed. Brasília-DF: Embrapa-CNPS, 2006. 306 p.

FERREIRA, L. A. et al. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p.80-89, ago. 2007. Disponível em:



<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-31222007000200011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222007000200011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 06 jun. 2017.

FERREIRA, L. A. **Bioestimulante e fertilizantes associados ao tratamento de sementes de milho e soja**. 2006. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006. Disponível em: <[http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/4020/1/DISSERTAÇÃO\\_Bioestimulante\\_e\\_fertilizantes\\_associados\\_ao\\_tratamento\\_de\\_sementes\\_de\\_milho\\_e\\_soja.pdf](http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/4020/1/DISSERTAÇÃO_Bioestimulante_e_fertilizantes_associados_ao_tratamento_de_sementes_de_milho_e_soja.pdf)>. Acesso em: 27 maio 2017.

FERREIRA, M. M. R. et al. Reguladores vegetais e nitrogênio em cobertura em feijoeiro de inverno no sistema plantio direto. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 6, n. 21, p.268-280, out. 2013. Disponível em: <<http://ojs.ufgd.edu.br/index.php/agrarian/article/viewFile/2207/1569>>. Acesso em: 18 maio 2017.

FERRI, M. G. Fisiologia vegetal. 2. ed. São Paulo: E.P.U. Editora Pedagógica Universitária LTDA, 1985. 400 p.

GARCIA, J. C, et al. **Aspectos Econômicos da Produção e Utilização do Milho**. Sete Lagoas: Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa, 2006. 12 p.

FONSECA, L. M. F.. **Inoculação com estirpes de *Azospirillum* e adubação nitrogenada no acúmulo de nutrientes e produtividade de milho**. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas, 2014. Disponível em: <[http://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/Dissertacao\\_Livia\\_Ferraz\(1\).pdf](http://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/Dissertacao_Livia_Ferraz(1).pdf)>. Acesso em: 06 jun. 2017.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 38 p. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/doc325.pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2017.

HUNGRIA, M, et al. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil, Netherlands**, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

KLUGE, F. T. R. **Efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* associado à reguladores vegetais em milho, utilizando diferentes doses de nitrogênio**. 2016. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Centro-oeste, Guarapuava, 2016. Disponível em: <[http://www.unicentroagronomia.com/imagens/noticias/dissertacao\\_fabieli\\_t.\\_da\\_rosa\\_kluge.pdf](http://www.unicentroagronomia.com/imagens/noticias/dissertacao_fabieli_t._da_rosa_kluge.pdf)>. Acesso em: 06 jun. 2017.

MARINI, D. **Resposta de híbridos de milho a associação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada**. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2012. Disponível em: <[http://tede.unioeste.br/tede/tde\\_arquivos/3/TDE-2012-12-15T110447Z-850/Publico/Deniele\\_Marini.pdf](http://tede.unioeste.br/tede/tde_arquivos/3/TDE-2012-12-15T110447Z-850/Publico/Deniele_Marini.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2017.

MARTINS, D. C. **Cultivares de milho submetidas ao tratamento de sementes com bioestimulantes, fertilizantes líquidos e *Azospirillum sp.*** 2014. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas, 2014. Disponível em: <<http://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ppgca/DISSERT DENIZE CARVALHO MARTINS.pdf>>. Acesso em: 22 maio 2017.

MARTINS, A.g. et al. Aplicação de Bioestimulante em Sementes de Milho Cultivado em Solos de Diferentes Texturas. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 4, p.440-445, 15 dez. 2016. Revista Scientia Agraria Paranaensis. <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n4p440-445>.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. MAPA. Instrução Normativa nº 57, de 12 de dezembro de 2013, sobre o estabelecimento dos critérios e requisitos para o credenciamento e monitoramento de laboratórios pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.

MORAIS, T.P. Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho. 83p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

MORAIS, T. P. et al. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 6, p.589-596, dez. 2015. FapUNIFESP. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-737X2015000600589#B42](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2015000600589#B42)>. Acesso em: 26 mar. 2017.

MOREIRA, F.M.S; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora Ufla, p. 449-465, 2006.

PANDOLFO, C.M, et al. **Produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio, em latossolo vermelho – safra 2011/12**. 2012. In: IX Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão, 2013, Campos Novos. Resumos expandidos, 2013.

PARIZOTTO, C; PANDOLFO, C.M. **Rendimento de milho no sistema agroecológico submetido à inoculação com *Azospirillum brasiliense* e uréia natural**. In: IX Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão, 2013, Campos Novos. Resumos expandidos, 2013.

PEIXOTO, C.M. **Nitrogenado, milho produz mais**. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, 10. ed. Pelotas: Cultivar, 1999. p. 1.

PERES, A. R. **Co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro cultivado sob duas lâminas de irrigação: produção e qualidade fisiológica de sementes**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Unesp, Ilha Solteira, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/111098/000798405.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 13 maio 2017.

REIS, V. M. Uso de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio como Inoculantes para Aplicação em Gramíneas. **Embrapa Agrobiologia**. Seropédica, RJ. 22 p., 2007. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 232)

REIS JUNIOR, F.B; MENDES, I.C. **A fixação biológica de nitrogênio e o meio ambiente**. Pelotas: Grupo Cultivar de Publicações LTDA, 2011.

RIBEIRO, P. **Bactérias aumentam produtividade do milho e reduzem adubos químicos**. 2015. EMBRAPA. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2467608/bacterias-aumentam-productividade-do-milho-e-reduzem-adubos-quimicos>>. Acesso em: 05 maio 2017.

RODRIGUES, L. A. et al. Avaliação fisiológica de sementes de arroz submetidas a doses de bioestimulante. **Nucleus**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.207-214, 30 abr. 2015. Fundação Educacional de Ituverava.

SANTOS, V. M, et al. USO DE BIOESTIMULANTES NO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE Zeamays L. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Gurupi, v. 12, n. 13, p.307-318, nov. 2013. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/104573/1/Uso-bioestimulante.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2017.

SANTOS, E. L; PERIN, F. A; MONTEIRO, M. A. Inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum brasiliense* e enraizador na cultura do milho (*Zea mays*) na segunda safra. **Acta Iguazu**, Cascavel, v. 4, n. 4, p.60-72, jun. 2015. Disponível em: <[file:///C:/Users/Usuario/Downloads/13962-50551-1-PB \(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/13962-50551-1-PB%20(1).pdf)>. Acesso em: 23 abr. 2017.

SILVA, L.M.M. **Desempenho agrônômico de milho em função do tratamento de sementes com *Azospirillum brasiliense* sob diferentes doses de nitrogênio mineral**.2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal, Ciências Agro-Veterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2013.

SILVA, T. T. A. et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 32, n. 3, p.840-846, mai/jun, 2008.

SOUZA, E. J. et al. Inoculação de *Azospirillum brasilense* na qualidade fisiológica de sementes de milho doce. **Nucleus**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.131-139, 30 abr. 2014.

PERIN, L. et al. Avaliação da capacidade de estabelecimento endofítico de estirpes de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* em milho e arroz. **Agronomia**, vol. 37, nº 2, p. 47-53, 2003.

TEDESCO, M.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2ª Ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995. 174 p.

TOTAL BIOTECNOLOGIA. Azototal. (a) Disponível em: <<http://www.totalbiotecnologia.com.br/produto.php?cult=1189&id=1487>>. Acesso em: 13 maio 2017.

TOTAL BIOTECNOLOGIA. Raiz. (b) Disponível em: <<http://www.totalbiotecnologia.com.br/produto.php?cult=1189&id=1487>>. Acesso em: 13 maio 2017.

TOTAL BIOTECNOLOGIA. Simetria. (c) Disponível em: <<http://www.totalbiotecnologia.com.br/produto.php?cult=1189&id=1487>>. Acesso em: 13 maio 2017.

VASCONCELOS, A. C. F. **Uso de bioestimulante nas culturas de milho e soja**. 2006. 112 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

VIEIRA, E.L. **Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja (*Glycine Max* (L.) Merrill), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2001. 122p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

WEBER, F. **USO DE BIOESTIMULANTE NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA**. 2011. 28 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011. Disponível em:

<[http://repositorio.ufpel.edu.br/bitstream/123456789/1528/1/dissertacao\\_fernanda\\_weber.pdf](http://repositorio.ufpel.edu.br/bitstream/123456789/1528/1/dissertacao_fernanda_weber.pdf)>. Acesso em: 06 jun. 2017.

\*FIOREZE, S. L. (Curso de Agronomia, UFSC – Campus Curitibanos). Comunicação pessoal, 2015)