



**DENIZE CARVALHO MARTINS**

**CULTIVARES DE MILHO SUBMETIDAS AO TRATAMENTO DE  
SEMENTES COM BIOESTIMULANTES, FERTILIZANTES LÍQUIDOS  
E *Azospirillum* sp.**

**SETE LAGOAS/MG**

**2014**

**DENIZE CARVALHO MARTINS**

**CULTIVARES DE MILHO SUBMETIDAS AO TRATAMENTO DE  
SEMENTES COM BIOESTIMULANTES, FERTILIZANTES LÍQUIDOS  
E *Azospirillum* sp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal de São João Del Rei, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

**Orientador: Prof. Dr. Iran Dias Borges**

**Coorientador: Dr. José Carlos Cruz**

**Coorientadora: Dra. Dea Alécia Martins Neto**

**SETE LAGOAS/MG**

**2014**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

**Divisão de Biblioteca da UFSJ, MG, Brasil.**

---

M375c20 Martins, Denize Carvalho, 1987-  
14

Cultivares de milho submetidas ao tratamento se sementes com bioestimulantes, fertilizantes líquidos e Azospirillum sp./Denize Carvalho Martins.--2014.

41f. : il.

Orientador: Iran Dias Borges

Co-orientadores: José Carlos Cruz

Dea Alécia Martins Netto.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de São João Del-Rei, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias.

Inclui bibliografia.

1. Milho - Cultivo- Teses. 2. Milho- Tratamento de sementes- Teses. 3.Milho-Qualidade fisiológica- Teses.I. Borges, Iran Dias. II.Cruz, José Carlos. III. Martins Netto, Dea Alécia. IV. Universidade Federal de São João Del-Rei. Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias. V. Título.

---

CDU: 63

**DENIZE CARVALHO MARTINS**

**CULTIVARES DE MILHO SUBMETIDAS AO TRATAMENTO DE  
SEMENTES COM BIOESTIMULANTES FERTILIZANTES LÍQUIDOS**

***E Azospirillum sp.***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal de São João Del Rei, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

**Orientador: Prof. Dr. Iran Dias Borges**

**Coorientador: Dr. José Carlos Cruz**

**Coorientadora: Dra. Dea Alécia Martins Netto**

Sete Lagoas, 17 de fevereiro de 2014.

Banca examinadora:

Prof. Dra. Nádia Nardely Lacerda Durães Parrella - UFSJ

Prof. Dr. Ramom Correia de Vasconcellos - UESB

---

Orientador: Prof. Dr. Iran Dias Borges

## **DEDICO**

Dedico esta conquista ao meu pai e minha mãe, João e Marta,  
meus maiores exemplos. A minha irmã Deise e ao meu noivo  
Dodô que sempre me incentivaram e apoiaram.

## AGRADECIMENTOS

À Deus por guiar todos os meus passos.

Aos meus pais João e Marta e a minha irmã Deise pelo incentivo e apoio incondicional.

Ao meu noivo Dodô, pelo amor, apoio, compreensão e paciência.

Ao meu orientador Prof. Dr Iran Dias Borges pela confiança, pelos ensinamentos passados durante todo curso, apoio, incentivo e amizade.

Ao meu coorientador Dr José Carlos Cruz pelo valioso apoio durante o planejamento e condução do experimento, amizade, conselhos e ensinamentos.

A minha coorientadora Dr Déa Alécia Martins Netto pela atenção, apoio, amizade e confiança.

Aos funcionários do Campo Experimental da Embrapa que me ajudaram no desenvolvimento de todo o experimento, sempre dispostos e atenciosos, em especial ao Paulo Roberto Martins (Paulinho), José Alves Pereira (Sr. Juca), Virgílio Augusto Dias Gonçalves, Willian de Souza Rodrigues, Luiz Carlos Ferreira, Leonardo Pereira e Oswaldo Guerra.

Aos amigos de curso Crísia, Deniete, Tamara, Alexandre e Tinoco pela convivência e amizade.

A UFSJ pela oportunidade para a realização do mestrado.

A EMBRAPA CNPMS pela disponibilização de todos os recursos para a realização deste trabalho, incluindo todos os funcionários.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos

A Monica Ribeiro funcionária do laboratório de sementes pela ajuda.

As funcionárias da biblioteca da Embrapa Rosângela, Vânia e Conceição pela atenção.

Ao pesquisador Antonio Carlos de Oliverira pela ajuda na estatística.

Ao pesquisador Ivanildo E. Marriel pelas sugestões.

Ao pesquisador Israel A. Pereira Filho pelos conselhos e incentivo.

A estudante da graduação Izabela pela ajuda na implantação do experimento.

A empresa Total Química pela doação do inoculante utilizado no trabalho.

Ao Everton pela doação do Estimulante e do Fertilizante líquido utilizado no trabalho

A banca examinadora, Nádia Nardely Durães Parrella e Ramom Correa de Vasconcellos pela participação.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

Página

<b>RESUMO.....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>i</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 A cultura do milho.....	3
2.2 Fixação biológica do nitrogênio.....	5
2.3 Bactérias diazotróficas.....	6
2.4 Bioestimulante.....	9
2.5 Fertilizantes líquidos aplicados via sementes – Micronutrientes.....	11
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
3.1 Material genético.....	14
3.2 Delineamento experimental e tratamentos.....	15
3.3 Análises estatísticas.....	15
3.4- Ensaio I- Análise da qualidade de sementes.....	15
3.5- Ensaio II- Experimento de campo.....	17
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>18</b>
4.1 Características das sementes.....	19
4.2 Características Agronômicas.....	25
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>34</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>35</b>

## **CULTIVARES DE MILHO SUBMETIDAS AO TRATAMENTO DE SEMENTES COM BIOESTIMULANTES FERTILIZANTES LÍQUIDOS E *Azospirillum* sp.**

**RESUMO** – A cultura do milho é uma das mais cultivadas no Brasil e no mundo. Novas tecnologias vêm sendo usadas visando incremento na sua produção, incluindo o uso crescente de sementes melhoradas associadas à aplicação de micronutrientes, reguladores de crescimento e inoculantes a base de bactérias diazotróficas. Assim, objetivou-se com esse trabalho verificar o desempenho agrônômico da cultura do milho e a qualidade fisiológica de suas sementes, em função do tratamento com o inoculante Azo Total<sup>®</sup> composto de *Azospirillum* sp., com o bioestimulante Stimulate<sup>®</sup> e com o fertilizante líquido Cellerate<sup>®</sup>. O experimento foi instalado e conduzido a campo no município de Sete Lagoas – MG, durante o ano agrícola 2012/13 utilizando-se o delineamento de blocos casualizados com quatro repetições, e tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x8, sendo duas cultivares de milho (P30F53 e P30F53 YH) e sete tratamentos de sementes mais a testemeunha (T1 = Testemunha; T2= Azo Total<sup>®</sup>; T3= Stimulate<sup>®</sup>; T4= Cellerate<sup>®</sup>; T5= Azo Total<sup>®</sup> + Stimulate<sup>®</sup>; T6= Azo Total<sup>®</sup> + Cellerate<sup>®</sup>; T7 T7= Stimulate<sup>®</sup> + Cellerate<sup>®</sup>; T8= Azo Total<sup>®</sup>+ Cellerate<sup>®</sup>+ Stimulate<sup>®</sup>). Foi utilizado o espaçamento de 0,50 m e a densidade de 60.000 plantas ha<sup>-1</sup>. Amostras das sementes utilizadas foram também submetidas a testes laboratoriais considerando o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes foram realizados os testes de germinação, teste de emergência, índice de velocidade de emergência, teste de frio, massa seca de parte aérea e de raiz das plântulas. Para a análise do desempenho agrônômico foram avaliadas as características: altura de planta, altura de espiga, número de espigas, produtividade, diâmetro do colmo, análise foliar, estande final, índice de espiga e peso de 1000 grãos. A cultivar P30F53YH proporciona maior produtividade de grãos e sementes de melhor qualidade que a cultivar P30F53 quando tratadas com bioestimulantes, fertilizantes líquidos e *Azospirillum* sp. Os produtos Azo Total<sup>®</sup>, Stimulate<sup>®</sup> e Cellerate<sup>®</sup> utilizados isolados ou em combinações sem o Cellerate<sup>®</sup> não causam prejuízos para a germinação de sementes. O uso dos produtos Azo Total<sup>®</sup>, Stimulate<sup>®</sup> e Cellerate<sup>®</sup> isolados ou associados incrementam o vigor das sementes pelo teste de Índice de Velocidade de Emergência. Tratamentos de sementes de milho com os produtos comerciais Azo Total<sup>®</sup>, Stimulate<sup>®</sup> e Cellerate<sup>®</sup> não incrementam significativamente a produtividade de grãos. Tratamento de sementes com Azo Total<sup>®</sup>, Stimulate<sup>®</sup> e Cellerate<sup>®</sup> não influenciam os teores foliares de nutrientes em plantas de milho.

**Palavras-chave:** produtividade; qualidade fisiológica, tratamento de sementes

## MAIZE CULTIVARS SUBMITTED TO SEED TREATMENT WITH LIQUID AND BIOSTIMULANTING FERTILIZERS AND *Azospirillum* sp.

**ABSTRACT** – Maize is one of the most widely cultivated crops in Brazil and throughout the world. New technologies are being used in order to increase its production, including the increased use of improved seeds associated with the application of micronutrients, growth regulators and diazotrophic bacteria based inoculants. As such, the aim of this work was to verify the agronomic performance of maize and physiological quality of its seeds, in function of the treatment with the inoculant AzoTotal® composed of *Azospirillum* sp., with the biostimulant Stimulate® and the liquid fertilizer Cellerate®. The experiment was installed and conducted, in field, in the city of Sete Lagoas - MG during the agricultural year 2012/13 using a randomized complete block design with four replications, and treatments in a 2x8 factorial design, with two maize cultivars (P30F53 and P30F53YH) and seven seed treatments plus control (T1 = Control; T2 = AzoTotal®; T3 = Stimulate®, T4 = Cellerate®, T5 = AzoTotal® + Stimulate®, T6 = AzoTotal® + Cellerate®, T7 = Stimulate® + Cellerate®, T8 = AzoTotal® + Cellerate® + Stimulate®). Spacing of 0.50 m and density of 60,000 plants ha<sup>-1</sup> was used. Samples of the seeds used were also subjected to laboratory tests considering the completely randomized design with four replications. To evaluate the physiological quality of seeds, germination tests, emergence test, emergence speed index test, cold test, and quantification of seedling areial and root part dry mass of were performed. For the analysis of agronomic performance the characteristics plant height, ear height, number of ears, productivity, stem diameter, leaf analysis, final stand, ear index and weight of 1000 grains were evaluated. Cultivar P30F53YH provides higher yield and better quality seed than P30F53 when treated with bio-stimulants, liquid fertilizers and *Azospirillum* sp. The AzoTotal®, Stimulate® and Cellerate® products used alone or in combinations without Cellerate® do not harm seed germination. The use of AzoTotal®, Stimulate® and Cellerate®, isolated or associated, increases seed vigor by the Emergence Speed Index test. Treatment of maize seeds with the commercial products AzoTotal®, Stimulate® and Cellerate® does not significantly increase grain productivity. Seed treatment with AzoTotal®, Stimulate® and Cellerate® does not influence foliar nutrient concentrations in maize plants.

**Keywords:** productivity; physiological quality, seed treatment

## 1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das plantas mais eficiente em armazenar energia. É uma das culturas mais cultivadas no mundo e de grande importância no Brasil. Apresenta um alto potencial produtivo, uma grande diversidade de utilização e devido valor nutritivo.

Na busca pela elevação dos níveis atuais de produtividade e redução nos custos de produção do milho no Brasil, novas tecnologias vêm sendo incorporadas aos sistemas de produção. Dentre essas, a utilização de biorreguladores, fertilizantes líquidos e inoculantes a base *Azospirillum* sp., aplicados via tratamento de sementes, são consideradas estratégias agronômicas promissoras para o incremento da produtividade e vem ganhando espaço e importância nos últimos anos.

A inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum* em gramíneas tem promovido incrementos significativos no desenvolvimento radicular das plantas, resultando em melhor aproveitamento e utilização de nutrientes e água e, conseqüentemente, em melhor desenvolvimento das plantas (Baldani et al., 1997). Essas bactérias atuam diretamente na fixação biológica de nitrogênio (Ashraf et al., 2011) e são capazes de assimilar o N<sub>2</sub> atmosférico e convertê-lo à forma assimilável (NH<sub>3</sub>), este processo é denominado fixação biológica de nitrogênio (FBN). Na agricultura sustentável, a fixação biológica de N<sub>2</sub> é uma importante forma de entrada de nitrogênio em solos agrícolas (Sharma et al., 2005).

Os bioestimulantes também têm apresentado crescente uso como técnica agrônômica para melhorar a produtividade de diversas culturas. Os hormônios contidos nos bioestimulantes são moléculas sinalizadoras, naturalmente presentes nas plantas em concentrações pequenas, sendo responsáveis por efeitos marcantes no desenvolvimento vegetal (Taiz & Zeiger, 2004).

O uso de fertilizantes líquidos contendo micronutrientes também vem ganhando importância na agricultura. Eles são aderidos na semente para minimizar problemas de deficiência de micronutrientes, durante os processos de germinação, desenvolvimento e produção de grãos. A importância dos micronutrientes pode ser entendida por meio das funções que exercem no metabolismo das plantas, atuando principalmente como catalisadores de várias enzimas (Lopes, 1989).

A resposta à aplicação de micronutrientes, bioestimulantes e *Azospirillum* sp. é muito variável, mas o aumento da produtividade que ocorre em alguns casos e, conseqüentemente, a

diminuição do custo relativo de produção têm motivado produtores a utilizá-los, principalmente na cultura do milho.

Apesar de haver recomendação de vários produtos no mercado para uso em sementes de milho, o uso desses produtos associados pode afetar a qualidade fisiológica das sementes e a produtividade do milho. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o desempenho de genótipos de milho submetidos a diferentes tratamentos de sementes com o uso do Bioestimulante Stimulate<sup>®</sup>, o Fertilizante líquido Cellerate<sup>®</sup> e o Inoculante composto de *Azospirillum* sp. Azo Total<sup>®</sup> e obter melhor manejo desses produtos de forma a ter uma recomendação adequada.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 A cultura do milho**

A cultura do milho é uma das culturas mais antigas do mundo, havendo indicações, por meio de escavações arqueológicas e geológicas de que é cultivado há pelo menos 6000 anos (Piperno & Flannery, 2001). É caracterizada como planta monocotiledônea, diploide e alógama da família das Poaceae (Gramineae), cujo ciclo fenológico varia de 90 a 205 dias, dependendo do genótipo e do clima (Norma et al., 1995).

O milho é cultivado em todo território brasileiro e destaca-se das demais culturas por ocupar a segunda maior área cultivada no País. Tem grande importância na contratação de mão de obra, com forte participação na geração de emprego no setor rural. Além disso, no Brasil, o milho se destaca, entre os grãos, como o produto de segundo maior volume produzido, sendo superado apenas pela soja.

O milho está em um momento oportuno para expansão, devido às tecnologias atualmente existentes e por uma questão de mercado internacional, que tem demandado cada vez mais o grão. Portanto, o produtor rural brasileiro tem no milho uma promissora opção de cultivo, dentro de um mercado cada vez mais profissional e rentável. Aumentar a produção e a produtividade da cultura é possível, desde que sejam seguidas orientações técnicas e questões como a logística de escoamento sejam melhoradas. (Embrapa, 2012).

As projeções de produção de milho no Brasil indicam um aumento de 16,3 milhões de toneladas entre as safras 2011/2012 e 2021/2022. Em 2021/2022 a produção deverá situar-se em 70,4 milhões de toneladas, e o consumo em 58,8 milhões. Esses resultados indicam que para atender esse consumo o País deverá ter um excedente da ordem de 11,4 milhões de toneladas para atender as exportações e formação de estoques (MAPA, 2012).

Segundo dados da CONAB, 2013 a média nacional de produtividade do milho foi de 5.104 kg/ha na safra 2012/2013 e previsão é de 5.074 kg/ha para a safra 2013/2014. A média de produtividade nacional não reflete o potencial atingido por parte dos produtores, essa média é obtida de diversas propriedades com diferentes sistemas de produção, onde, em muitos casos, não são utilizadas técnicas essenciais para obter elevadas produtividades, como calagem, adubação, cultivares melhoradas e técnicas culturais (Santos, 2010).

Uma das importâncias do milho esta relacionada ao aspecto social. Existe uma clara dualidade na produção de milho no Brasil: uma grande parcela de produtores que não estão envolvidos com a produção comercial e que atingem apenas baixos índices de produtividade, e uma pequena parcela de produtores, com elevado índice de produtividade, com aplicação intensiva de tecnologia e elevado investimento de capital na produção de milho (Duarte, 2004).

Existe uma grande evolução no nível tecnológico da produção de milho no Brasil, mas maximização da produtividade só faz sentido quando associada à otimização do uso de insumos, atendendo os critérios de sustentabilidade e maior rentabilidade (Cruz et al., 2013). O aumento da produtividade tem encontrado entraves pelo desconhecimento dos produtores e responsáveis técnicos das quantidades de nutrientes extraídos e exportados pela cultura, o que permitiria uma adubação mais criteriosa e adoção de sistemas de cultivo mais adequados (Custódio et al., 2003).

Segundo Borges, 2006 o cultivo de uma lavoura de milho deseja obter lucratividade e alta produtividade. Além de condições ambientais e de solo ideais, a cultura requer do agricultor tomar decisões corretas como escolha da cultivar e melhor alternativas de manejo de adubação da cultura. Sabe-se que o rendimento da produtividade do milho é o resultado do potencial genético da semente, das condições edafoclimáticas, do local de semeadura e do manejo adotado na lavoura (Barbaro, 2008).

Cultivos tecnológicos como o milho, absorvem grandes inovações no sistema produtivo, mas deve-se atentar para os verdadeiros ganhos com a incorporação desses produtos às sementes, que são o principal insumo da agricultura moderna, pois são responsáveis por todo o potencial genético e produtivo que garantem o sucesso do empreendimento agrícola (Ferreira et al., 2007).

A necessidade em atender a crescente demanda interna do produto, a competição com outras culturas e a forte perspectiva de expansão deste cereal e seus derivados para mercados externos, alertam para a necessidade de pesquisas que objetivem maior eficiência e competitividade da cultura do milho (Borges et al., 2006).

## **2.2 Fixação Biológica do Nitrogênio**

O elemento nitrogênio apresenta interações complexas entre o ar, solo, planta e microorganismos. Tais interações dizem respeito à forma com que as plantas absorvem o nitrogênio, que ocorre nas formas sólidas  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_3$  e  $\text{NH}_4$ , sendo estas influenciadas pela fixação biológica, mineralização e nitrificação. Além disso, existem perdas deste nutriente do sistema solo pela lixiviação e desnitrificação, podendo ocorrer a contaminação do ambiente (Zaied et al., 2003).

Alguns microrganismos podem usar o nitrogênio molecular da atmosfera como fonte nitrogenada. A essa conversão do nitrogênio molecular em compostos nitrogenados dá-se o nome de Fixação Biológica de Nitrogênio (Silva et al., 2004).

A Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) é um processo de transformação do  $\text{N}_2$  na forma inorgânica  $\text{NH}_3$ , e a partir dessa forma, em formas reativas orgânicas e inorgânicas. A reação de redução do  $\text{N}_2$  a  $\text{NH}_3$  é realizada por microrganismos que contêm a enzima nitrogenase esses microrganismos são conhecidos como fixadores de  $\text{N}_2$  ou diazotróficos (Bergamaschi, 2006).

O N fornecido pelo processo de fixação biológica é menos propenso a lixiviação e volatilização já que ele é utilizado *in situ*, sendo assim, o processo biológico é uma alternativa barata, limpa e sustentável para o fornecimento de N na agricultura comercial (Huergo, 2006). Estima-se que a contribuição de nitrogênio fixado biologicamente seja de 139 milhões de mg de N ano<sup>-1</sup>, enquanto a fixação química contribui com 49 milhões de mg de N ano<sup>-1</sup> (Moreira, 2008).

O processo industrial que transforma o  $\text{N}_2$  em amônia ( $\text{NH}_3$ ) requer: hidrogênio (derivado de gás de petróleo); catalisador contendo ferro; altas temperaturas (300° a 600°C); e altas pressões (200 a 800 atm). Assim o gasto de fontes energéticas por tonelada de amônia sintetizada é de, aproximadamente, seis barris de petróleo (Hungria et al., 2007).

Um agravante na utilização dos fertilizantes nitrogenados reside na baixa eficiência de sua utilização pelas plantas, raramente ultrapassando 50%. Deve-se considerar, ainda, que os fertilizantes nitrogenados estão altamente relacionados à poluição ambiental, pois a lixiviação do N e o escoamento desse nutriente pela superfície do solo resultam em acúmulo de formas nitrogenadas, particularmente nitrato, nas águas dos rios, lagos e lençóis subterrâneos, podendo atingir níveis tóxicos aos peixes e ao homem (Hungria, 2007).

Os custos econômicos e ambientais relacionados à fertilização nitrogenada têm estimulado a busca por alternativas que possam diminuir a utilização deste fertilizante sem

que haja diminuição da produção (Roesch et al., 2005). Além da preocupação crescente, no exterior e no Brasil, com os possíveis efeitos negativos do excesso de nitrato nos mananciais são fatores que devem ser levados em consideração para o incentivo ao estudo do processo natural de Fixação biológica do Nitrogênio (FBN) (Cantarella & Duarte, 2004).

A importância da fixação biológica de N em gramíneas é devido a maior facilidade de aproveitamento de água das mesmas, em relação às leguminosas, pela maior eficiência fotossintética, estas apresentam sistema radicular fasciculado, tendo vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas, para extrair água e nutrientes do solo (CAMPOS et al., 2000).

O milho (*Zea mays* L.) é geralmente afetado por problemas de estresse ambiental, dentre os quais se pode destacar baixa fertilidade dos solos, o que, na maioria das vezes está relacionado à deficiência de nitrogênio (Lana, 2012). A adequada nutrição do milho é um fator essencial, onde o nitrogênio (N) é um dos nutrientes exigidos em maiores quantidades por estar diretamente relacionado a processos fisiológicos essenciais a vida da planta (Taiz & Zeiger, 2004).

A cultura do milho necessita de quantidades elevadas de nitrogênio (N), que dificilmente será suprida pelo solo, necessitando assim do uso de outras fontes suplementares. O aumento no suprimento de nitrogênio aumenta o crescimento e o vigor da planta, enquanto a sua deficiência resulta em plantas menores e menos esverdeadas. Essas diferenças afetam a interceptação solar, a fotossíntese e o rendimento de grãos pela cultura (Below, 2002).

### **2.3 Bactérias Diazotróficas**

As bactérias do gênero *Azospirillum* são microrganismos diazotróficos, aeróbicos capazes de se associar endofiticamente a plantas de interesse agrícola como milho, arroz, trigo e sorgo (Dobereiner, 1991). Em gramíneas possuem penetração passiva, acessam o interior das plantas através de ferimentos, de sítios de emergência de raízes, coifa e estômatos nas folhas, espalham-se pelos tecidos radiculares via apoplasto, colonizando os espaços intercelulares das células da hipoderme, córtex radicular e parede do aerênquima (Olivares et al., 1997; James et al., 1994)

São de vida livre, capazes de promover o crescimento das plantas e aumentar as produtividades em muitas culturas de importância agrônômica (Dobbelaere et al., 2003).

Estudos envolvendo bactérias fixadoras de nitrogênio associadas às Poáceas (como milho, trigo, arroz, cana-de-açúcar) iniciaram-se no Brasil, em 1956. Na década de 80, foi comprovado que algumas dessas espécies de plantas podem obter quantias significativas de nitrogênio com a atividade desses microrganismos (Boddey & Dobereiner, 1988).

Além de portadoras da capacidade de reduzir o nitrogênio atmosférico, muitas pesquisas sugerem que há interferência dessas bactérias no crescimento das plantas e na morfologia das raízes por meio da biossíntese de hormônios vegetais (Zaied et al., 2003). Os hormônios vegetais (auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e ácido abscísico) são substâncias orgânicas que desempenham funções na regulação do crescimento em plantas (Raven et al., 2001).

Os benefícios destas bactérias podem ser diretos e indiretos. Dos quais os primeiros são destacados o processo de fixação biológica de nitrogênio, produção de fitormônios e solubilização de fosfato inorgânico. Os benefícios indiretos estão relacionados à indução sistêmica de resistência a doenças, controle biológico e produção de compostos orgânicos que captam ferro (Dobbelaere & Okon, 2007).

O sistema de fixação de  $N_2$  pelo *Azospirillum* é predominantemente realizado por meio de associação, onde a fonte de energia são os exsudados das raízes das plantas hospedeiras (Marschner, 1995). Raízes de cereais exsudam ácidos, açúcares, aminoácidos e compostos orgânicos da rizosfera (Fan et al., 1997).

Devido a essa interação associativa do *Azospirillum* sp. ele promove FBN sem formar nódulos na cana de açúcar, milho arroz (Hirsch et al., 2001). *Azospirillum* apresenta grande especificidade, que é a mobilidade e quimiotaxia (nível ótimo de energia dos exsudados radiculares) com algum genótipo particular (dos Santos et al., 2005). Portanto, a interação bactéria-gramínea, em termos de potencialidade agrônômica como fixadoras de  $N_2$  ou como produtoras de promotores de crescimento para as plantas, depende do grau de associação entre os microrganismos e a planta (Bergamaschi et al., 2007).

Segundo Pedrinho (2010), o mecanismo de promoção de crescimento vegetal por microrganismos endofíticos ainda necessita de mais estudos para melhor entendimento dos fatores envolvidos. A interação entre o genótipo da planta e a comunidade endofítica promotora de crescimento e outros fatores podem interagir neste processo, como as comunidades microbianas epifíticas e da rizosfera.

Quando se utiliza bactérias diazotróficas em inoculação de sementes deve se levar em consideração que estas estão amplamente distribuídas nos solos. Portanto, a inoculação à base de bactérias do gênero *Azospirillum* deve competir satisfatoriamente com as bactérias diazotróficas nativas e com a microflora do solo (Didonet et al., 2000).

Os efeitos positivos da interação entre *Azospirillum* sp. e milho, tais como aumentos da produção de matéria seca, rendimento de grãos e o acúmulo de nitrogênio em plantas inoculadas é relatado por vários autores (Okon & Vanderleyden, 1997; Hungria et al., 2010; Baldani et al., 1997). No entanto pesquisas realizadas sugerem que a inoculação, não substitui o adubo nitrogenado, apenas promove a melhor absorção e utilização do N disponível (Saubidet et al., 2002). Ao contrário das leguminosas, a inoculação de não leguminosas com bactérias endofíticas ou associativas, mesmo fixando nitrogênio, não consegue suprir totalmente as necessidades das plantas em nitrogênio (Hungria, 2011).

Em muitas pesquisas não foram encontrados resultados positivos com a utilização de bactérias diazotróficas em milho, Bartcehchen et al. (2010), não encontram resultados significativos em milho inoculado com *Azospirillum brasiliense* associada a três doses de cobertura de nitrogênio. Sumner (1990) relatou resultados negativos na produção de grão de cereais inoculados com *Azospirillum* sp.. Dotto et al. (2010), verificaram que a bactéria não influenciou a produtividade do híbrido de milho inoculado.

A inconsistência de resultados em trabalhos de inoculação com *Azospirillum* é bastante conhecida e variações no ambiente, solo ou substrato, nas plantas e nos componentes da microflora são consideradas como responsáveis por esta variação de respostas à inoculação entre diferentes experimentos (Dobbelaere et al., 2001).

Um problema sério na inoculação da soja é a incompatibilidade com fungicidas e outros produtos usados no tratamento de sementes (Hungria et al., 2007). Esse também poderá ser um desafio na inoculação com *Azospirillum*. Pesquisas ainda precisam ser conduzidas para verificar a compatibilidade com os principais agroquímicos recomendados para as culturas do milho, trigo e outras gramíneas (Hungria et al., 2011). Também se faz necessário verificar a compatibilidade do *Azospirillum* com outros produtos utilizados em sementes de milho, como os bioestimulantes e os fertilizantes líquidos.

## **2.4 Bioestimulantes**

Define-se bioestimulantes ou estimulantes vegetais como uma mistura de reguladores vegetais, ou de um ou mais reguladores com outros compostos de natureza química diferente (aminoácidos, vitaminas, sais minerais, etc.), (Castro, 2006). São substâncias naturais ou sintéticas que podem ser aplicadas diretamente nas plantas para alterar seus processos vitais e estruturais, com a finalidade de incrementar a produção, melhorar a qualidade e facilitar a colheita (Alleoni et al., 2000).

Os bioestimulantes ou estimulantes vegetais agem na degradação de substâncias de reserva das sementes, na diferenciação, divisão e alongamento celulares (Castro & Vieira, 2001). Funcionam como ativadores do metabolismo das células dão vigor ao sistema imunológico, reativam processos fisiológicos nas diferentes fases de desenvolvimento (Silva et al., 2010).

A eficiência dos bioestimulantes é atribuída à sua mobilidade através do organismo, ao potencial para amplificação dos sinais e à capacidade de promover ações reguladoras complexas por meio de interações entre vários processos bioquímicos e fisiológicos (Rodrigues & Leite, 2004). Os bioestimulantes têm influência em muitos processos metabólicos nas plantas, tais como: respiração, fotossíntese, síntese de ácidos nucleicos e absorção de íons, Hamza & Sugars (2001).

A embebição de sementes em substrato contendo solução com substâncias promotoras de crescimento é uma técnica conhecida há muito tempo. Técnicas que induzem a maior germinação e qualidade fisiológica são importantes para aumentar o potencial de desempenho das sementes e a uniformidade das plantas em condições de campo (Aragão et al., 2003).

A aplicação destas substâncias nos primeiros estágios de desenvolvimento da planta estimula o crescimento radicular, proporcionando recuperação mais rápida após período de estresse hídrico; maior resistência a insetos, pragas, doenças e nematoides; estabelecimento mais rápido e uniforme das plantas aumentando a absorção de nutrientes e, por consequência, a produção (Lana et al., 2009).

O Stimulate<sup>®</sup> é um Bioestimulante da Stoller Interprises Inc., contendo reguladores vegetais e traços de sais minerais quelatizados. Seus reguladores vegetais constituintes são ácido índolbutírico (auxina) 0,005%, cinetina (citocinina) 0,009% e ácido giberélico (giberelina) 0,005%. Segundo Castro et al. (1998) esse produto incrementa o crescimento e o desenvolvimento vegetal estimulando a divisão celular, a diferenciação e o alongamento das células, também aumenta a absorção e a utilização dos nutrientes.

As auxinas, são responsáveis pelo crescimento das plantas, atuam nos mecanismos de expansão celular. A vida do vegetal depende continuamente da presença de auxinas e citocininas. As citocininas estão relacionadas ao processo de divisão celular. Além dessa atividade fundamental ao desenvolvimento do vegetal, outras atividades estão ligadas a esse hormônio, como a senescência foliar, a mobilização de nutrientes, a dominância apical, a formação e a atividade dos meristemas apicais, o desenvolvimento floral, a germinação de sementes e a quebra de dormência de gemas. Mais recentemente foram descobertas outras funções para as citocininas como produto intermediário em processos de desenvolvimento das plantas regulado pela luz, incluindo a diferenciação dos cloroplastos, o desenvolvimento do metabolismo autotrófico, e a expansão de folhas e cotilédones (Taiz & Zeigler, 2004). A função das giberelinas esta associada à promoção do crescimento caulinar. Plantas submetidas a aplicações de giberelinas podem ser induzidas a obter um maior crescimento na sua estatura. (Taiz & Zeigler, 2004).

Resultados obtidos em pesquisas têm sido contraditórios em relação à utilização do bioestimulante Stimulate<sup>®</sup>. Em sementes de milho não houve melhoria da qualidade de sementes quando elas foram submetidas a tratamento com bioestimulantes (Silva et al., 2008). Tweddell et al. (2000) utilizaram o bioestimulante em plantas de milho em diferentes níveis de adubação nitrogenadas e não verificaram diferença significativa na produção de grãos. Vasconcelos (2006) constatou que o uso de bioestimulante não aumenta a produção de milho e de soja, não obtendo produtividades satisfatórias.

A maior concentração do Stimulate<sup>®</sup> em tratamento de sementes alterou significativamente o rendimento de grãos, diâmetro do colmo e número de grãos em cada fileira da espiga (Dourado Netto et al., 2004). Na cultura da soja o bioestimulante proporcionou incremento no número de vagens por planta e produtividade de grãos (Bertolin et al., 2010).

Segundo Casillas et al.(1986) os bioestimulantes ou estimulantes vegetais são eficientes quando aplicadas em baixas concentrações favorecendo o bom desempenho dos processos vitais da planta, permitindo assim a obtenção de melhores rendimentos na colheita e ainda garantir o melhor desempenho em condições ambientais adversas.

Algumas plantas cultivadas já atingiram no Brasil estágios de evolução que exigem elevado nível técnico para alcançar maiores produtividade. Nessas condições o uso de controladores hormonais, ou bioestimulantes, podem frequentemente mostrar-se altamente

compensadores (Castro, 2006). A utilização dessas substâncias aumenta de importância na medida em que aumenta o potencial genético das culturas e a ausência de fatores limitantes de clima e solo, quando se objetiva a obtenção de altos rendimentos e a melhoria da qualidade do produto colhido (Floss, 2007).

O tratamento de sementes com inseticidas ou produtos a base de hormônios vegetais vem se tornando comum, esses produtos atuam na semente, com efeito, fitotônico, que é caracterizado pelas vantagens positivas no crescimento e no desenvolvimento das plantas, proporcionadas pela aplicação de algum ingrediente ativo (Silveira, 2011).

Conforme Ferreira (2007), as empresas de insumos têm investido no desenvolvimento de novos produtos, como bioestimulantes e aditivos, para a incorporação nas sementes e uso foliar visando favorecer a expressão do potencial genético e produtivo das cultivares. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito desses aditivos à base de hormônios, micronutrientes, aminoácidos e vitaminas sobre a qualidade fisiológica das sementes e a produtividade das culturas. Dessa forma, deve-se atentar para os reais ganhos com o uso desses produtos nas sementes.

## **2.5 Fertilizantes Líquidos aplicados via sementes – Micronutrientes**

O critério adotado para a separação de macro e micronutrientes é meramente quantitativo, uma vez que os micronutrientes desempenham suas funções no metabolismo vegetal, requerendo menores quantidades comparativamente à demanda de macronutriente (Favarin, 2000).

Os Micronutrientes apesar de serem exigidos em menores quantidades pelas plantas de milho são essenciais para o desenvolvimento e reprodução das plantas. A deficiência de um dos micronutrientes pode ter efeito na desorganização de processos metabólicos como na deficiência de um macronutriente como o nitrogênio (Coelho & França, 1995). A inadequada disponibilidade de micronutrientes não terá efeito apenas no desenvolvimento da cultura, mas também reduzindo a eficiência no uso de fertilizantes contendo macronutrientes (Sena, 2010).

A disponibilidade de produtos comerciais contendo micronutrientes tem aumentado nos últimos anos, e existem resultados experimentais mostrando grande variabilidade de resposta à sua aplicação (Cerreta, 2005). O tratamento de sementes, como método de adicionar micronutrientes às culturas, apresenta vantagens tais como: melhor uniformidade de

aplicação, bom aproveitamento pela planta e, principalmente, redução dos custos de aplicação (Luchese et al., 2004).

O tratamento de sementes com micronutrientes tem apresentado resultados significativos, principalmente em regiões que adotam elevados níveis de tecnologia e manejo nas culturas (Ávila et al., 2006). A maioria dos micronutrientes são ativadores e/ou componentes estruturais de várias enzimas (Taiz & Zeiger, 2004). Entre os fertilizantes à base de micronutrientes utilizados no tratamento de sementes de milho, disponíveis no mercado, encontra-se o Cellerate<sup>®</sup> que é constituído de 10% de Molibdênio e 5% de Zinco.

O zinco é o micronutriente mais limitante à produção do milho no Brasil, (Coelho, 2008). A deficiência de micronutrientes tem ocorrido com maior frequência nos solos de cerrado (Luchese et al., 2004). Geralmente apresentam baixo teor no material de origem (Barbosa Filho, 1991). Nesses solos de cerrado a maioria das pesquisas realizadas mostram resposta do milho à adubação com zinco, sendo que o mesmo não ocorre com os outros nutrientes (Coelho, 2008).

O conteúdo de Zn disponível pode ser afetado pelo pH do solo, ele se encontra mais disponível em solos mais ácidos e apresenta disponibilidade mínima em pH acima de 7. A calagem em excesso pode provocar deficiência de Zn. Em solos com pH ácido a deficiência de zinco pode ocorrer após a aplicação de adubos fosfatados solúveis, pela formação de fosfatos de Zn de muito baixa solubilidade (Dechen, 2006). Em solos de baixa disponibilidade de Zn e com alta fertilidade, fertilizantes nitrogenados têm intensificado a deficiência Zn, afetando a absorção de Zn por meio da mudança de pH do solo, sendo necessário seu uso na adubação (Floneragan & Webb, 1993). Portanto sistemas de produção que empregam altas doses de N necessitam de maior cuidado nas aplicações de micronutrientes (Favarin, 2008).

A eficiência do tratamento de sementes com zinco tem como princípio a translocação do zinco da semente para a planta. A absorção do zinco aplicado nas sementes se dá quase integralmente, aumentando a reserva da semente (Bonnecarrere, 2003). Dessa forma a reserva de zinco da semente passa a ser uma importante fonte para a nutrição da planta (Ribeiro & Santos, 1996). Na presença do zinco a enzima aldoíase catalisa a síntese de lipídios, substância de reserva das sementes (Favarin & Marini, 2000). O zinco auxilia na síntese de substâncias que atuam no crescimento e nos sistemas enzimáticos, é essencial para a ativação de certas reações metabólicas. Participa da síntese do aminoácido triptofano, precursor do AIA (Ácido Indol Acético), um hormônio do crescimento.

A deficiência de zinco acarreta sérios distúrbios fisiológicos nas plantas, os quais se refletem na redução da produtividade em diversas culturas (Bonnecarrere et al., 2003). O milho é uma das culturas que mais responde à aplicação de Zn no solo, proporcionando ganhos de matéria seca e de grãos (Favarin, 2008).

Outro micronutriente que têm merecido especial atenção na cultura do milho mais recentemente é o molibdênio (Fancelli, 2010). É o micronutriente que exerce papel indispensável na assimilação do nitrato absorvido pelas plantas, atuando em nível da redutase do nitrato, responsável pela redução de nitrato a nitrito e posteriormente a amônia (NH<sub>3</sub>) (Favarin, 2008). Qualquer deficiência deste elemento pode comprometer o metabolismo do nitrogênio, diminuindo o rendimento das culturas (Ferreira et al., 2001). Causando interferências no crescimento, desenvolvimento e produção de grãos (Favarin, 2008).

A disponibilidade de Mo no solo é extremamente afetada pelo pH, ou seja quanto maior o pH do solo, maior será a disponibilidade de Mo (Campo & Hungria, 2002). Diferindo assim de todas as outras deficiências de micronutrientes, a de Mo está associada com condições de pH do solo baixo e não alto. Dentre todos os micronutrientes, o Mo é o que está presente nas plantas em menor concentração sendo que menos de 1 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca já é suficiente para suprir as plantas adequadamente ( Kirkby & Romheld, 2007).

O molibdênio utilizado pelas plantas pode ser originado do próprio solo ou resultante da aplicação de produtos químicos e, ou, orgânicos que o contêm em sua composição (Pereira et al., 2012). Em face da sua imobilização no solo, a aplicação de molibdênio no solo teria sua eficiência muito inferior, requerendo, para isso, quantidades necessárias de Mo superiores em dez vezes, para equiparar eficiência com a de outros métodos (Albino & Campo, 2001). O tratamento de sementes com molibdênio é suficiente para prover à exigência de crescimento da cultura (Mortvedt, 1997).

Segundo Borges (2006), os efeitos mais evidentes do molibdênio talvez estejam presentes na qualidade da semente, refletindo em todas as fases da cultura, sendo que se encontram poucos trabalhos na literatura quanto à acumulação de Mo em plantas de milho.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido na safra de primavera-verão 2012/2013 para a avaliação de genótipos de milho em diferentes tratamentos de sementes com o Fertilizante líquido

Cellerate<sup>®</sup>, o Bioestimulante Stimulate<sup>®</sup> e Inoculante composto de *Azospirillum* sp. Azo Total<sup>®</sup>. Os dois genótipos utilizados são recomendados para a região central do estado de Minas Gerais.

Para definição da época de semeadura foram consideradas as expectativas de precipitação na ocasião da primavera e as normais climatológicas registradas para a região no período de primavera-verão.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análises de sementes e no campo em área experimental do CNPMS, Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo Sete Lagoas MG, sob sistema de plantio semi-direto e com irrigação suplementar do tipo aspersão convencional, quando necessário. A área experimental está localizada a 12 km da cidade de Sete Lagoas, na região central de Minas Gerais, com coordenadas geográficas 19° 28' 36" de latitude sul e 44° 11' 53" de longitude oeste, com altitude de 769 metros. O solo da área experimental é um Latossolo Vermelho Distroférico, e o clima, segundo Köppen é do tipo AW (tropical estacional de savana, inverno seco), temperatura média anual de 22,1°C e precipitação média anual 1340 mm.

### 3.1 Material genético

Foram utilizados dois híbridos simples de milho, P30F53 e P30F53 YH recomendados para as condições edafoclimáticas da região central de Minas Gerais.

**Tabela 1-** Características dos híbridos de milho utilizados neste experimento.

Híbrido	Empresa	Base Genética	Ciclo	Tipo de Grão	Altura planta(m)	Altura espiga(m)	Densidade (pl ha <sup>-1</sup> )
30F53 Convencional	Du Pont do Brasil	Híbrido Simples	Precoce	Semi-duro	2,60 a 2,80	1,10 a 1,20	55-72
30F53YH Transgênica	Du Pont do Brasil	Híbrido Simples	Precoce	Semi-duro	2,60 a 2,80	1,10 a 1,20	60-80

### 3.2 Delineamento experimental e tratamentos

Foram realizados dois ensaios, um em campo e outro no laboratório. Em ambos os dois genótipos de milho foram submetidos a diferentes tratamentos de sementes.

No ensaio de laboratório o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 repetições. Já no ensaio de campo o delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com 4 repetições.

Em ambos os ensaios os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 2 x 8, sendo os dois híbridos e os 7 tratamentos de sementes e a testemunha, descritos a seguir:

T1= Testemunha

T2= Azo Total<sup>®</sup>;

T3= Stimulate<sup>®</sup>;

T4= Cellerate<sup>®</sup>;

T5= Azo Total<sup>®</sup> + Stimulate<sup>®</sup>;

T6= Azo Total<sup>®</sup> + Cellerate<sup>®</sup>;

T7= Stimulate<sup>®</sup> + Cellerate<sup>®</sup>;

T8= Azo Total<sup>®</sup> + Cellerate<sup>®</sup> + Stimulate<sup>®</sup>.

As sementes de milho foram tratadas com o Azo Total<sup>®</sup> na dosagem de 1000ml/60.000 sementes, o bioestimulante Stimulate<sup>®</sup> na dosagem de 12,5 ml kg<sup>-1</sup> de sementes e parte com o fertilizante Cellerate<sup>®</sup>, na dosagem de 17,5 ml kg<sup>-1</sup> de sementes. O tratamento com os produtos foi realizado na pré-semeadura, utilizando-se as mesmas dosagens para todos os tratamentos.

### **3.3 Análises estatísticas**

Os resultados de cada ensaio foram submetidos à análise de variância individualmente, e quando ocorreram diferenças significativas, identificadas pelo teste F (P<0,05), foram aplicados testes de médias com o auxílio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

### **3.4 Ensaio I - Análise da qualidade das sementes**

#### **Teste de germinação**

A semeadura foi feita em folhas de papel Germitest, pelo sistema de rolos umedecidos com água, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Os rolos foram mantidos em germinadores à temperatura de 25°C. Aos 4 e 7 dias, foram realizadas as contagens do número de plântulas normais, segundo os critérios das Regras para Análise de

Sementes-RAS (Brasil, 2009). Cada tratamento composto de 4 repetições com 50 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

#### **Teste de emergência**

A semeadura foi realizada em canteiro de terra. Cada tratamento foi composto por 4 repetições de 50 sementes. Após a semeadura, foram realizadas avaliações diárias a partir do início da emergência, computando-se o número de plântulas emergidas até a estabilização. Foram computadas as porcentagens de plântulas normais aos 21 dias e o índice de velocidade de emergência, segundo a fórmula proposta por Maguire (1962).

#### **Teste de frio**

A semeadura foi feita em folhas de papel Germitest, pelo sistema de rolos umedecidos com água, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. Os rolos foram mantidos em germinadores à temperatura de 10 °C por sete dias e posteriormente a 25 °C por cinco dias, cada tratamento foi composto por quatro repetições de 50 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

#### **Massa seca de parte aérea e de raiz**

Para o cálculo da massa seca de parte aérea e de raiz, foram utilizadas as plântulas do teste de germinação. Aos sete dias, as plântulas foram separadas em parte aérea e raiz.

A parte aérea das plântulas de milho e as raízes foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa com circulação forçada de ar, regulada à temperatura de 65°C, até o material atingir peso constante. Desse modo, foram calculadas as massas secas de parte aérea e de raiz, os resultados foram expressos em gramas por planta.

### **3.5 Ensaio II - Experimento em campo**

#### **Implantação e condução do experimento**

O solo foi preparado e as correções feitas de acordo com a análise química do mesmo (tabela 2). A semeadura foi realizada na última quinzena do mês de outubro de 2012. Cada

parcela foi constituída de cinco linhas de seis metros de comprimento, espaçadas 0,5 m entre linhas, considerando a densidade de 60.000 plantas ha<sup>-1</sup>, sendo considerada como área útil as três linhas centrais. Foram distribuídas seis sementes por metro linear, realizando-se o desbaste 30 dias após a semeadura, deixando-se três plantas por metro linear.

A correção do solo e as adubações de semeadura e cobertura foram realizadas considerando a análise química do solo. Todos os tratamentos receberam a mesma adubação de plantio. A adubação de base foi realizada com 350 kg.ha<sup>-1</sup> de NPK 8-28-16. A adubação de cobertura foi realizada de acordo com o manejo convencional da cultura sendo aplicados 100 kg ha<sup>-1</sup> de N 40 dias após a semeadura.

**Tabela 2.** Resultados da análise de amostras de solo (0-20 cm) da área do experimento, antes da implantação do experimento. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

<b>Ph</b>	<b>H+AL</b>	<b>P</b>	<b>CARBONO TOTAL</b>	<b>Al</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>K</b>	<b>SB</b>	<b>CTC</b>	<b>V</b>
(H <sub>2</sub> O)	(cmolc/cm <sup>3</sup> )	(mg/dm <sup>3</sup> )	(%)	(cmolc/dm <sup>3</sup> )	(cmolc/dm <sup>3</sup> )	(cmolc/dm <sup>3</sup> )	(mg/dm <sup>3</sup> )	(cmolc/dm <sup>3</sup> )	(cmolc/dm <sup>3</sup> )	(%)
6,3	1,42	11,25	1,69	*	4,07	0,50	94	4,82	6,24	77
<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>							
(mg/dm <sup>3</sup> )	(mg/dm <sup>3</sup> )	(mg/dm <sup>3</sup> )	(mg/dm <sup>3</sup> )							
0,93	25,92	12,30	3,81							

Métodos utilizados: pH -> H<sub>2</sub>O (1:2,5) / Al, Ca, Mg -> KCl 1N/ K,P -> Mehlich (HCl 0,05N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025N)

Irrigação complementar foi realizada por meio de aspersão convencional, sendo o manejo realizado utilizando-se dados da estação climatológica do CNPMS/EMBRAPA. O controle de plantas daninhas, pragas e doenças foram feitos sempre que necessário, mediante monitoramento constante.

### Características avaliadas no ensaio de campo

Foram avaliadas as seguintes características agronômicas:

**Altura de planta:** altura média de 10 plantas de cada parcela útil, medidas, antes da colheita, em metros do nível do solo até a inserção da folha bandeira, após o estágio de florescimento (estádio 5);

**Altura de espiga:** altura média das espigas de 10 plantas competitivas da parcela útil, medidas em metros do nível do solo até o ponto de inserção da primeira espiga, após o estágio de grãos leitosos (estádio 6);

**Número de espigas:** realizada a contagem do número total de espigas em cada parcela útil;

**Estande Final:** Contagem do número total de plantas existentes em cada parcela por ocasião da colheita.

**Diâmetro do Colmo:** Obtido por meio de um paquímetro, realizando a leitura a 10 cm do solo no primeiro entre nó da planta, após o estágio de florescimento (estádio 5).

**Análise Foliar:** Foram coletadas o terço médio de 30 folhas por parcela da base da espiga, no estágio de florescimento (estádio 5).

**Índice de espigamento:** Obtido pela relação entre o número de plantas e espigas da área útil da parcela.

**Peso de 1000 grãos:** Realizada a pesagem de três amostras de 100 grãos, coletadas ao acaso, por repetição, sendo a massa referente aos grãos corrigida para 13% de umidade e multiplicada por 10.

**Produtividade:** após a colheita manual, as espigas foram despalhadas e debulhadas; após pesagem, determinou-se o teor de água dos grãos e foi feita a correção para 13% e os dados foram transformados em  $\text{kg ha}^{-1}$ .

Utilizando-se a seguinte expressão:

$$P_{13\%} = PC \times \frac{100 - U}{87}$$

Em que:

$P_{13\%}$  = Produtividade de grãos ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) corrigida para a umidade padrão 13%.

PC = Produtividade de grãos sem correção ( $\text{kg ha}^{-1}$ ).

U = Umidade dos grãos observada no campo (%).

## 4. Resultados e discussão

### 4.1 Análise da qualidade das sementes - ensaio de laboratório

O resumo das análises de variâncias para os resultados referentes aos testes de germinação, 2ª leitura de germinação, teste de frio, massa seca de parte aérea e raiz para as sementes de milho dos híbridos P30F53 e P30F53 YH, são apresentados na Tabela 3; na Tabela 4 são apresentados os resultados da emergência e do índice de velocidade de emergência.

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância dos dados referentes à 1ª e 2ª leitura de germinação (1ª e 2ª LEIT), teste frio(TF) massa seca raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) de plântulas de milho considerando duas cultivares com sementes tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

FV	GL	QM				
		1ª LEIT	2ª LEIT	TF	MSR	MSPA
Tratamentos (T)	7	89,205357**	21.848214*	305.964286**	121382,4494**	11117,3541*
Cultivar (C)	1	297,562500**	5.062500 <sub>n.s</sub>	2601.000000**	1934025,521**	70456,6875 <sub>n.s</sub>
T x C	7	14,848214 <sub>n.s</sub>	8.491071 <sub>n.s</sub>	139.571429*	102046,2827**	33803,5922 <sub>n.s</sub>
Erro	48	9,354167	5.979167	37.000000	17199,9791	29050,8125
Total	63					
Média Geral		90.71875	95.34375	81.9375000	1058,4791	10388,1875
CV%		3,37	2,56	7,42	12,39	16,42

\*\* (P≤0,01); \* (P≤0,05); <sub>n.s</sub> não significativo.

**Tabela 4.** Resumo da análise de variância dos dados referentes aos testes de emergência (EM) e índice de velocidade de emergência (IVE) plântulas de milho considerando duas cultivares com sementes tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

FV	GL	QM	
		EM	IVE
Bloco	3	17,895833 <sub>n.s</sub>	0,351739*
Tratamentos (T)	7	9,491071 <sub>n.s</sub>	0,151696*
Cultivar (C)	1	95,062500**	3,700814**
T x C	7	4,062500 <sub>n.s</sub>	0,048060 <sub>n.s</sub>
Erro	45	6,829167	0,053998
Total	63		
Média Geral		96,28	8,99
CV%		2,71	2,58

\*\* (P≤0,01); \* (P≤0,05); <sub>n.s</sub> não significativo.

Para o efeito dos tratamentos foram verificados efeitos significativos para todas as variáveis excetuando o teste de emergência, indicando uma semelhança no efeito dos tratamentos analisados no vigor das sementes.

Para as cultivares foi verificado efeito significativo para todas as variáveis excetuando e 2ª leitura de germinação e massa seca da parte aérea. Para a interação Cultivares x Tratamentos houve efeito significativo para os testes de frio e massa seca de raiz o que evidenciou, para essas variáveis, comportamento diferenciado dos efeitos dos tratamentos nas cultivares analisadas.

Na tabela 5 observa-se os resultados para a o teste de germinação da 1ª e da 2ª leitura das plântulas. Evidenciou-se que sempre que o Cellerate® quando esteve associado a outro produto a germinação foi significativamente prejudicada. As sementes apresentaram melhores taxas de germinação quando se utilizou os produtos de forma isolada, contudo sem diferenças significativas da testemunha. Podemos ainda inferir que as associações dos produtos analisados mostrou-se sem vantagens à qualidade fisiológica e ao vigor em tratamento de sementes de milho, sugerindo ser desaconselhável realiza-las.

**Tabela 5.** Porcentagem de germinação pelos testes de 1ª e 2ª leitura de germinação de plântulas de híbridos de milho oriundas de sementes tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

Tratamentos	1 Leitura germinação	2 Leitura germinação
Testemunha	95,00 a	96,25 a
Azo Total®	93,50 a	96,25 a
Stimulate®	92,50 a	97,25 a
Cellerate®	92,75 a	97,00 a
Azo Total® + Stimulate®	91,25 a	96,50 a
Azo Total® + Cellerate®	87,75 b	93,25 b
Stimulate® + Cellerate®	86,50 b	93,25 b
Azo Total® + Stimulate® + Cellerate®	86,50 b	94,00 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott.

O Cellerate® tem em sua formulação 5% de zinco e 10% de molibdênio. O tratamento de sementes com zinco objetiva aumentar o teor desse micronutriente contido na semente, porém sua eficiência está relacionada com os efeitos que possa causar na germinação e no vigor das sementes e na resposta das culturas (Ribeiro & Santos,1996) . O zinco quando presente em níveis excedentes no ambiente pode afetar o crescimento e metabolismo normal de espécies vegetais (Marschner, 1995).

Em trabalho com soja Albino & Campo (2001) verificaram que a adição de Mo antes da inoculação reduziu o número de células viáveis de *Bradyrhizobium* na semente, em relação ao tratamento somente infectado, em quatro doses de Mo, confirmando, assim, que este micronutriente aplicado na semente afeta a sobrevivência do *Bradyrhizobium*.

Segundo Pereira (2012), a qualidade fisiológica das sementes de milho é influenciada negativamente por doses crescentes de molibdênio. Ribeiro et al. (1994), testando fontes de zinco e boro aplicadas às sementes de milho, na dose recomendada pelo fabricante, não encontraram diferenças entre a testemunha e as sementes tratadas quanto à germinação,

corroborando com os resultados encontrados no presente trabalho. Assim, o uso de produtos contendo esses micronutrientes no tratamento de sementes de milho, considerando também os resultados do ensaio realizado, parece não ser vantajoso.

Na tabela 6 observa-se que em condições do teste frio as sementes da cultivar P30F53YH apresentaram menor desempenho que as sementes da cultivar P30F53 para os tratamentos utilizados com exceção da testemunha e do tratamento Stimulate® +Cellerate®. Observa-se que como ocorreu nos testes de germinação, as associações entre os produtos testados também não foram vantajosas, notadamente quando estava presente o Cellerate®. Melhores resultados foram encontrados quando os produtos foram utilizados de forma isolada, contudo sem diferenças significativas em relação a testemunha.

Ferreira et al. 2007, constataram que a emergência das plântulas em condição de estresse, pelo teste de frio, foi afetada pelo Cellerate®, na dosagem de 10 mL.kg<sup>-1</sup> de sementes, reduzindo a emergência em relação à testemunha. Silva et al. 2008, também relataram que sob condições de estresses a utilização dos bioestimulantes Stimulate® +Cellerate® e Cellerate® parecem reduzir a qualidade fisiológica de sementes de milho. Os resultados do presente trabalho corroboram com os dos autores supra citados, pressupondo ter ocorrido efeito deletério, ou pelo menos não vantajoso, na qualidade da semente de milho quando tratadas com Cellerate®.

**Tabela 6.** Porcentagem de germinação pelo teste de frio de plântulas de híbridos de milho oriundas de sementes tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

Tratamentos	Teste Frio	
	30F53	30F53YH
Testemunha	88,00 A a	81,00 A a
Azo Total®	93,00 A a	83,00 A b
Stimulate®	91,50 A a	88,00 A a
Cellerate®	93,50 A a	65,50 B b
Azo Total® + Stimulate®	90,00 A a	79,50 B b
Azo Total® + Cellerate®	91,00 A a	72,50 B b
Stimulate® + Cellerate®	74,00 B a	68,50 B a
Azo Total® + Stimulate® + Cellerate®	85,00 A a	66,50 B b
Média	88,31	75,56

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si para os tratamentos, médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si para as cultivares pelo Teste de Scott-Knott.

Para a massa seca da parte aérea (Tabela 7) os tratamentos que proporcionaram maior massa seca da parte aérea de plântulas foram os tratamentos com os produtos aplicados isoladamente, excetuando o Cellerate®. Provavelmente, a maior produção de matéria seca por sementes inoculadas com Azo Total® e Azo Total® + Stimulate® seja devido à produção de substâncias promotoras de crescimento, proposta de ambos os produtos. Bashand & Holguin (1997), relataram que fitohormônios, principalmente o ácido indol-acético (AIA), excretados por *Azospirillum* desempenham papel essencial na promoção do crescimento de plantas em geral.

**Tabela 7.** Massa seca da parte aérea de plântulas de híbridos de milho oriundas de sementes tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

<b>Tratamentos</b>	<b>Massa seca parte aérea (g)</b>
Testemunha	10,23 b
Azo Total®	12,89 a
Stimulate®	10,42 b
Cellerate®	9,25 b
Azo Total® + Stimulate®	11,89 a
Azo Total® + Cellerate®	9,77 b
Stimulate® + Cellerate®	8,87 b
Azo Total® + Stimulate® + Cellerate®	9,70 b

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott.

Além disso, foi verificado por Vieira (2001) em trabalho com as culturas de soja, feijão e arroz que os fitorreguladores aplicados diretamente sobre as sementes uma hora antes da semeadura apresentaram valores superiores a testemunha nas variáveis crescimento radicular vertical, velocidade de crescimento radicular vertical das raízes, comprimento radicular total e rendimento da cultura, além da aplicação desses fitorreguladores não apresentam fitotoxicidade para as respectivas culturas.

Para a massa seca de raízes a cultivar P30F53YH apresentou menor desempenho que as sementes da cultivar P30F53 para os tratamentos utilizados com exceção da testemunha e quando se utilizou o tratamento Stimulate® +Cellerate®. Os tratamentos com os produtos aplicados isoladamente e a associação do Azo Total® com eles tiveram incremento significativos à testemunha, notadamente para a cultivar 30F53. Já cultivar 30F53YH (Tabela 8) não apresentou diferenças na produção de massa seca das raízes em função dos tratamentos aplicados; entretanto, percebe-se que houve uma tendência de maior produção de massa seca de raízes quando as sementes receberam tratamentos que continham *Azospirillum* sp e nos

tratamentos em que está associado com Stimulate®. As bactérias promoveram um incremento significativo na biomassa e no volume radicular, principalmente nas etapas iniciais de desenvolvimento das plântulas sendo um ponto importante em condições de stress climático e falta de umidade no solo.

O incremento do sistema radicular do milho, propicia vantagens iniciais a cultura e essas vantagens iniciais podem ou não, repercutir na colheita. Segundo Didonet et al. (2000), essas vantagens iniciais das plantas infectadas poderiam ser compensadas pelas plantas não infectadas, uma vez que os demais componentes do rendimento são definidos mais tardiamente.

**Tabela 8.** Massa seca da raiz de plântulas de híbridos de milho oriundas de sementes tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

Tratamentos	Massa seca raiz (g)	
	30F53	30F53YH
Testemunha	10,58 Ab	8,59 Aa
Azo Total®	13,73 Aa	7,30 Ba
Stimulate®	14,04 Aa	8,03 Ba
Cellerate®	13,94 Aa	7,43 Ba
Azo Total® + Stimulate®	14,74 Aa	9,89 Ba
Azo Total® + Cellerate®	12,47 Aa	8,52 Ba
Stimulate® + Cellerate®	7,29 Ac	8,42 Aa
Azo Total® + Stimulate® + Cellerate®	13,92 Aa	10,41Ba

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott.

Esses resultados são semelhantes com os obtidos por Silva (2008), os autores verificaram que nos valores de matéria seca de raízes, parte aérea, matéria seca total das plântulas de uma maneira geral, houve redução nesses valores quando as sementes foram tratadas com Cellerate® e a mistura de Stimulate® + Cellerate®.

De maneira geral percebe-se que o tratamento de sementes com o Cellerate® associado ao Stimulate® interferiu negativamente no desenvolvimento inicial das plântulas e proporcionou alterações fisiológicas. Alguns produtos, quando aplicados sozinhos ou em combinação com fungicidas, podem, em determinadas situações, ocasionar redução na germinação das sementes e na sobrevivência das plântulas, devido ao efeito de fitotoxicidade (Oliveira & Cruz, 1986).

Na tabela 9, observa-se que no teste do índice de velocidade de emergência houve um efeito positivo dos tratamentos de sementes em relação à testemunha, todos os tratamentos

influenciaram positivamente a velocidade de emergência das plântulas de milho sem diferirem entre si. Isto indica que a prática de tratar sementes com bioestimulantes, fertilizantes líquidos e *Azospirillum* sp. promove ganhos no desempenho das sementes de milho.

**Tabela 9.** Porcentagem de plântulas germinadas referente aos testes do Índice de Velocidade de emergência (IVE) de plântulas de duas cultivares de milho tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

<b>Tratamentos</b>	<b>IVE</b>
Testemunha	8,69b
Azo Total®	9,04a
Stimulate®	8,95a
Cellerate®	9,11a
Azo Total® + Stimulate®	8,95 a
Azo Total® + Cellerate®	9,13 a
Stimulate® + Cellerate®	9,08 a
Azo Total® + Stimulate® + Cellerate®	8,99 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott.

Na tabela 10, observa-se que nos testes de emergência e índice de velocidade de emergência que a cultivar P30F53 YH apresentou desempenho superior a cultivar P30F53. Muito provavelmente isso se deve às características oriundas dos lotes de sementes utilizados e não dos genótipos, que se diferenciam apenas pelo evento transgênico presente.

**Tabela 10.** Porcentagem de plântulas germinadas referente aos testes de emergência (EM) e Índice de Velocidade de emergência (IVE) de plântulas de duas cultivares de milho tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

<b>Cultivares</b>	<b>Testes</b>	
	<b>EM</b>	<b>IVE</b>
30F53	95,06 b	8,75 b
30F53YH	97,50 a	9,23 a

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Scott-Knott.

Observou-se, de maneira geral, superioridade do lote de sementes transgênicas quanto ao vigor para a emergência das sementes. Apesar do desempenho em velocidade de emergência ser melhor que a testemunha para todos tratamentos aplicados á semente, isso não refletiu na emergência total de plântulas.

#### **4.2 Características agronômicas - ensaio de campo**

O resumo da análise de variância para os resultados referentes às características agrônômicas estande final, número de espigas, índice de espigamento, peso de 1000 grãos, produtividade, altura de plantas, altura de espiga e diâmetro do colmo estão apresentados na Tabela 11.

**TABELA 11.** Resumo da análise de variância para os resultados das características agrônômicas estande final (EF), número de espigas (NE), índice de espigamento (IE), peso de 1000 grãos (P), altura (A), altura da espiga (ESP), diâmetro do colmo (DC) e produtividade (PROD) considerando duas cultivares de milho submetidas a diferentes tratamentos de sementes. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

FV	GL	QM							
		EF (pl parcela)	NE (parcela)	IE (pl parcela)	P (g)	A (m)	ESP (m)	DC (cm)	PROD (t ha <sup>-1</sup> )
Bloco	3	1,375 <sub>n.s</sub>	4,848 <sub>n.s</sub>	0,001 <sub>n.s</sub>	2365,427 <sub>n.s</sub>	0,004 <sub>n.s</sub>	0,005 <sub>n.s</sub>	0,065 <sub>n.s</sub>	0,900 <sub>n.s</sub>
Trat.	7	6,392 <sub>n.s</sub>	15,962 <sub>n.s</sub>	0,006 <sub>n.s</sub>	1170,363 <sub>n.s</sub>	0,001 <sub>n.s</sub>	0,001 <sub>n.s</sub>	0,003 <sub>n.s</sub>	0,344 <sub>n.s</sub>
Cult.	1	6,250 <sub>n.s</sub>	21,265**	0,055**	199,021 <sub>n.s</sub>	0,153**	0,093**	0,265**	3,925*
T x C	7	6,750 <sub>n.s</sub>	18,729 <sub>n.s</sub>	0,004 <sub>n.s</sub>	677,465 <sub>n.s</sub>	0,004 <sub>n.s</sub>	0,003 <sub>n.s</sub>	0,007 <sub>n.s</sub>	0,128 <sub>n.s</sub>
Erro	45	4,297	13,582	0,005	639,943	0,004	0,002	0,012	0,506
Total	63								
Média		54,312	61,453	1,1323	246,226	2,106	1,088	2,376	9,002
CV %		3,82	6,00	6,25	10,27	2,98	4,2	4,67	7,9

\*\* (P≤0,01); \* (P≤0,05); <sub>n.s</sub> não significativo.

Entre os blocos, a análise de variância não apontou diferenças significativas para nenhum dos caracteres avaliados, pressupondo ser insignificante a influencia do ambiente de instalação das parcelas nas características avaliadas. Para o efeito dos tratamentos também não foi verificado efeito significativo em nenhuma das características avaliadas. Para as cultivares foi verificado efeito significativo para todas as características avaliadas excetuando apenas estande final de plantas (EF) e peso de 1000 grãos (P), indicando desempenho semelhante das cultivares para ambas as características.

O fato da falta de resposta positiva, em relação aos tratamentos de sementes com os produtos comerciais analisados para a maioria das variáveis avaliadas, pode ser devido a vários fatores. Para Didonet et al. (2000), a inoculação de bactérias diazotróficas em sementes deve levar em consideração que estas estão amplamente distribuídas nos solos, portanto, a inoculação à base de bactérias do gênero *Azospirillum* deve competir satisfatoriamente com as bactérias diazotróficas nativas e com microflora do solo, dificultando a expressão do efeito positivo dessa prática. Isso pode justificar total ou parcialmente os resultados obtidos.

Contudo, no presente trabalho objetivou-se a avaliação de características fitotécnicas não contemplando a mensuração da distribuição das bactérias no solo bem como a capacidade competitiva dessas e da microflora do solo.

Segundo Silva et al. (2007) a capacidade competitiva das bactérias diazotróficas com outras é alta somente quando as condições são de baixa disponibilidade de N no ambiente. Com o nitrogênio disponível na forma mineral o complexo da nitrogenase não é sintetizado e elas passam a utilizar o nitrogênio disponível. Roesch et al. (2006) também verificaram que a colonização de raízes de plantas de milho por bactérias diazotróficas foi inibida por altas doses de nitrogênio durante os primeiros estádios de crescimento.

Campos et al. (2000), avaliando inoculante a base de *Azospirillum* spp. na cultura do milho em condições de campo, não encontraram diferenças estatísticas para número de plantas, número de espigas, altura de plantas e rendimento de grãos. Campos et al. (1999), trabalhando com o inoculante Graminante para as culturas de trigo e aveia, também não encontraram respostas agronômicas favoráveis ao produto em nenhum dos parâmetros analisados. Entretanto Cavallet et al. (2000) em condições de semeadura direta em Latossolo Vermelho eutrófico de fertilidade média a alta verificaram aumentos de produtividade de 17 %, com o uso da bactéria *Azospirillum* sp. em plantas de milho.

Apesar de avanços da pesquisa, resultados obtidos em ensaios de campo quanto à eficácia agronômica de inoculantes a base de *Azospirillum* não são consistentes (Hungria et al., 2010). Isso se evidencia neste trabalho. A sua adoção como técnica complementar à adubação de N ainda é questionável. São necessários mais estudos sobre a eficiência das bactérias do gênero *Azospirillum* sobre os rendimentos na cultura do milho, assim como os demais produtos Stimulate® e Cellerate®. Trabalhos como esses que visam ao emprego de diversos produtos no tratamento de sementes de forma associada são importantes, uma vez que a maioria das respostas que se têm até o momento é obtida de forma isolada.

Em trabalho para avaliar a eficiência agronômica da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* na cultura do milho, associada com o uso do biorregulador Stimulate®, Braccini et al. (2012) afirmaram que *Azospirillum* pode substituir parcialmente a adubação nitrogenada na cultura do milho. Além disso, constataram que *Azospirillum* + Stimulate® provocaram um aumento na produtividade, mesmo quando a adubação nitrogenada é reduzida.

Ferreira et al. (2007), verificaram que o tratamento das sementes de milho com o bioestimulante Stimulate® e com o fertilizante Cellerate® não afeta a produtividade de grãos. A ausência de resposta significativa quanto aplicação do Cellerate® na produção milho pode ter ocorrido devido à alta disponibilidade de zinco no solo  $3,81 \text{ mg dm}^{-3}$  (tabela 2). E devido ao teor de molibdênio estar no solo em quantia supostamente suficiente. Outro aspecto a considerar seria a reserva de Mo nas sementes já estar suficiente, pois, segundo Weir & Hudson, citados por Tanner (1982), o teor de  $0,08 \text{ mg kg}^{-1}$  de Mo nas sementes de milho é suficiente para possibilitar o crescimento e desenvolvimento normal das plantas.

Segundo Santos, (2008) a ausência de resposta da aplicação de Mo em sementes de milho ocorreu devido ao suprimento desse micronutriente pelas sementes serem suficiente para ativar o metabolismo da planta, atuando como cofator na atividade do nitrato redutase, porém, não interferindo na produtividade da cultura.

Segundo Ferreira, (2001) em nenhuma das características avaliadas, produção de grãos, peso das espigas com e sem palha, peso de mil grãos e o número de espigas por planta houve influencia da aplicação de Zn, Mo e suas interações com o N na cultura do milho. Ávila et al. (2006) observaram que o tratamento das sementes de milho com micronutrientes não apresentou resultados satisfatórios em aumentar a produtividade de sementes de todos os híbridos avaliados.

Segundo Orioli et al. (2008), a aplicação de Zn em semente de trigo não propiciou diferenças significativas para a massa seca da parte aérea, altura de plantas, número de entrenós e número de perfilhos.

Os resultados obtidos por Ferreira (2001), por Orioli et al. (2008) e por Ávila et al. (2006) corroboram com os deste trabalho. Resultados contrários foram encontrados por Sagiorato et al. (1993), verificaram que, quando as sementes de milho foram tratadas com zinco, houve um incremento de 38,8 % na produção.

Considerando as condições em que o experimento foi desenvolvido, a aplicação dos produtos utilizados Cellerate®, Stimulate® e *Azospirillum* sp., não apresentam vantagens para a cultura, representando ainda maior custo para o produtor.

Uma possível razão para a ausência de resposta para aplicação de Cellerate®, Stimulate® e *Azospirillum* sp. em sementes de milho pode estar relacionada aos teores dos nutrientes presente no solo no início do experimento e as boas condições do solo de forma geral (tabela 2).

Acredita-se que os efeitos da aplicação de bioestimulantes e fertilizantes são significativos quando as plantas são submetidas a determinadas condições de limitação dos recursos de produção (água, Luz, nutrientes, CO<sub>2</sub>, etc.). É provável que os níveis desses durante o período de condução deste experimento, não foram propícios para que os produtos manifestassem os seus benefícios.

Rubin et al. (1995) constaram que em parcelas com aplicação de calcário, não ocorre resposta à aplicação de zinco, boro, molibdênio e cobalto no tratamento de sementes e nas parcelas sem aplicação de calcário, o tratamento de sementes com molibdênio aumenta o rendimento de grãos de soja. Observa-se que os atributos químicos do resultado da amostra do solo da área experimental permitem inferir que o solo não necessitava de correção ou foi adequadamente corrigido.

Para as características número de espigas, índice de espigamento e produtividade, a cultivar 30F53YH apresentou melhores resultados que a cultivar 30F53 (tabela12). Provavelmente a maior produtividade da cultivar 30F53YH ocorreu devido ao maior índice de espigamento e ao maior número de espigas desta em relação a cultivar 30F53. A produtividade de grãos de milho é determinada pela densidade de plantas, prolificidade ou número de espigas por planta, número médio de fileiras de grãos por espiga, número médio de grãos por fileira e massa média do grão (Baldinot Jr. et al., 2005).

**Tabela 12.** Número de espigas (NE), Índice de espigamento (IE), produtividade (PROD), altura planta (AP), altura da espiga (AE), diâmetro do colmo (DC) de duas cultivares de híbridos de milho tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

Cultivar	NE	IE	PROD	AP (m)	AE (m)	DC (cm)
<b>30F53</b>	59,59 b	1,10 b	8,75 b	2,05 b	1.05 b	2,31 b
<b>30F53YH</b>	63.31 a	1.16 a	9,25 a	2,15 a	1.12 a	2,44 a

Esse maior índice de espigamento da cultivar 30F53YH em relação a cultivar 30F53 pode ser devido à ocorrência do ataque de lagartas na fase inicial de condução do experimento, apesar de não ser esperado houve um pequeno ataque de lagartas para a 30F53YH. Esse ataque foi mais severo na cultivar 30F53 o que pode ter influenciado o índice de espigamento, pois a formação da espiga da planta de milho começa no estágio 1 de desenvolvimento segundo a classificação de Fancelli (1986). No estágio 2, que inicia com oito folhas totalmente desenvolvidas, incrementa o desenvolvimento das espigas e no estágio

3 acelera a taxa de crescimento das espigas (Fancelli, 2000). Assim, quaisquer tipo de estresse, biótico ou abiótico, nessa fase inicial comprometeria o tamanho de espigas.

A cultivar 30F53YH apresentou maior altura de plantas, altura de espigas e diâmetro do colmo em relação a cultivar 30F53. Provavelmente, isso também se justifica por ter a cultivar transgenica sofrido menos com o ataque de pragas durante o ciclo. Contudo, é de se esperar que a maior altura de plantas de milho se reflita numa maior altura de inserção de espiga.

O resumo da análise de variância para os resultados referentes aos resultados da análise foliar para os teores de Nitrogênio, Potássio, Cálcio, Magnésio, Enxofre, Cobre, Ferro, Manganês e Zinco estão apresentados na tabela 13.

**Tabela 13.** Resumo da Análise de variância para os teores foliares dos nutrientes Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Enxofre (S), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn) de duas cultivares de milho tratadas com diferentes produtos. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

FV	GL	QM									
		N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
Bloco	3	0,001	0,004	109,32	0,115	0,265	0,009	0,337	9017,429	13,47	3,93
		n.s	n.s	**	n.s	n.s	n.s	n.s	**	n.s	n.s
Trat.	7	0,001	0,024	5,58	0,097	0,240	0,009	0,578	920,349	5,14	1,50
		n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Cult.	1	0,000	0,001	2,14	0,069	0,214	0,000	0,439	74,261	10,24	2,13
		n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
T x C	7	0,001	0,042	8,049	0,041	0,189	0,010	0,418	717,294	4,577	1,609
		n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Erro	45	0,001	0,038	8,830	0,089	0,217	0,008	0,929	842,557	10,549	3,919
Total	63										
Média											
Geral		4,00	3,04	244,19	3,91	1,41	2,04	10,69	170,30	38,23	12,50
CV%		0,31	6,43	12,28	7,67	33,02	0,42	9,02	17,04	8,5	15,84

\*\* (P≤0,01); \* (P≤0,05); n.s não significativo.

As quantidades de nutrientes extraídas pelas plantas de milho dependem de fatores como produtividade, clima, fertilidade do solo, adubação, e tratos culturais, dentre outros. Não foi verificado efeito significativo dos fatores analisados, Tratamentos e Cultivares, e nem a interação entre eles sobre os teores médios foliares dos nutrientes avaliados.

Outros autores avaliaram anteriormente os valores médios dos teores foliares de nutrientes em plantas de milho obtendo resultados, de maneira geral, muito semelhante aos obtidos no presente trabalho (Tabela 14).

**Tabela 14.** Teores médios foliares de nitrogênio (N), em porcentagem, de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), em g/kg, e de cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn), em mg/kg, obtidos em plantas de milho por quatro autores em trabalhos conduzidos no Brasil. UFSJ, Sete Lagoas, MG, 2014.

	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
<b>Autores</b>	%	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
Martinnes et al., 1999 <sup>(1)</sup>	2,75-3,25	2,50-3,50	17,5-22,5	2,50-4,00	2,50-4,00	1,00-2,00	6-20	20-250	20-150	20-70
Martins, 2014 <sup>(2)</sup>	4	3,03	24,18	3,92	1,42	2,00	10,21	170,31	38,25	12,5
Ferreira et al., 2001 <sup>(3)</sup>	2	1,6	13,3	6,0	3,7	1,1	10,57	116,17	106,53	23,45
Borges, 2006 <sup>(4)</sup>	2,64	3,17	22,99	4,14	1,28	1,67	15,74	-	69,05	48,80

(1) Valores adaptados considerados ideais para a cultura do milho segundo Martinnes et al., 1999.

(2) Resultados obtidos neste trabalho considerando os híbridos 30F53 e 30F53YH, em condições de campo, Sete Lagoas, MG, 2014.

(3) Valores médios adaptados do acúmulo de nutrientes foliares aos 63 dias após a emergência para obter 90% da produção máxima de grãos de milho, Coimbra, MG, 2001.

(4) Valores médios adaptados do acúmulo de nutrientes foliares aos 65 dias após a emergência dos híbridos (GNZ2004 e P30F33). UFLA, Lavras, MG, 2006.

O teor de nitrogênio nas folhas das plantas de milho é influenciado pela adubação nitrogenada. Segundo Killorn & Zourarakis (1992), a concentração foliar de nitrogênio demonstra a disponibilidade do nitrogênio no solo, sendo que a sua análise pode ser útil na detecção de deficiência desse nutriente, conseqüentemente, na predição de produção de grãos. A alta disponibilidade de nitrogênio no solo da área experimental, talvez devido ao histórico de plantios consecutivos de milho por vários anos, e à adequada fertilização com N no plantio e em cobertura, pode ter contribuído para a elevada extração desse nutriente pela planta (4 %), valor este que se destaca em relação a outros trabalhos (Tabela 14).

De acordo com Ferreira et al. (2001), em trabalho com milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco o teor de nitrogênio foliar encontrado aos 45 e 65 dias após a emergência, necessários para garantir 90 % da produção máxima de grãos é de 2,73 e 2,00 (%), respectivamente. Para Jones Jr. et al., (1991), esse valor é de 3,0 a 3,5 e de 2,70 a 4,0 (%), respectivamente para 45 e 63 dias após a emergência.

O acúmulo de fósforo, cálcio e enxofre estão dentro dos teores considerados ideais para a cultura e semelhante aos valores obtidos em outros trabalhos (tabela 14).

No presente trabalho, os acúmulos de potássio observados, assim como para o N, são superiores aos obtidos pelos demais autores (tabela 14), enfatizando as boas condições nas quais a cultura foi implantada. O potássio é o segundo nutriente absorvido em maiores quantidades pela cultura do milho (Borges, 2006; Coelho, 2008; Von Pinho et al., 2009). Este nutriente é vital para a fotossíntese e a regulação osmótica das células vegetais (Taiz & Zeiger, 2004), é essencial na síntese proteica e de grande importância na utilização mais eficiente de água pela planta (Lopes, 1989).

Com relação ao magnésio os teores acumulados estão abaixo do considerado ideal para a cultura segundo Martinez et al. (1999), mas esses valores são similares aos obtidos por Borges (2006) que trabalhou com duas cultivares sendo o 30F33 da mesma empresa que as utilizadas no presente trabalho.

No presente trabalho foi obtido valor médio do teor de Zn nas folhas de 12,50 (mg/kg) sendo esse valor abaixo do valor considerado ideal para cultura do milho segundo Martinez et al. (1999) e também inferior aos valores encontrados por outros autores (tabela 14). Contudo, Rosolem & Franco (2000) constataram que o sistema radicular do milho mostrou-se pouco sensível à deficiência de Zn, não havendo prejuízo ao crescimento com teores do nutriente da ordem de 7 mg kg<sup>-1</sup> nas raízes e 12 mg kg<sup>-1</sup> na parte aérea.

Esse baixo acúmulo de Zn também difere do trabalho de Borges et al. (2009) em trabalho para avaliar o acúmulo de micronutrientes em híbridos de milho em diferentes estádios de desenvolvimento; esses autores constataram que o zinco é o micronutriente mais acumulado nos híbridos de milho estudados, seguido por manganês, cobre e boro, que é o menos absorvido dos micronutrientes.

O baixo acúmulo de Zn pode ter ocorrido devido às condições de pH do solo e as altas taxas de nitrogênio, pois, como já citado neste trabalho, o Zn em solos com alta fertilidade e uso intenso de fertilizantes nitrogenados têm manifestado deficiência desse micronutriente. Contudo, os totais acumulados não prejudicaram o desempenho do milho.

Os micronutrientes Cobre, Ferro, e Manganês apresentaram acúmulos dentro do considerado ideal para a cultura (tabela 14). Segundo Gallo & Coelho (1963) o milho não é muito responsivo à adubação com micronutrientes. Seus teores nas folhas dependem da fertilidade do solo, do antagonismo e de outras relações de micronutrientes, além de

diferenças pela adubação, enfatizando a necessidade de conhecimento desses problemas na utilização de dados da análise foliar.

De maneira geral, observou-se com esse trabalho, assim como Borges (2006), não haver uma mudança no padrão de acúmulo de nutrientes em plantas de milho nas cultivares analisadas sendo as diferenças observadas na produção e nas quantidades acumuladas e/ou exportadas. Contudo, os tratamentos de sementes de milho analisados não proporcionaram incrementos neste padrão de acúmulo.

## 5. CONCLUSÕES

A cultivar P30F53YH proporciona maior produtividade de grãos e sementes de melhor qualidade que a cultivar P30F53 quando tratadas com bioestimulantes, fertilizantes líquidos e *Azospirillum* sp.

Os produtos Azo Total<sup>®</sup>, Stimulate<sup>®</sup> e Cellerate<sup>®</sup> utilizados isolados ou em combinações sem o Cellerate<sup>®</sup> não causam prejuízos para a germinação de sementes.

O uso dos produtos Azo Total<sup>®</sup>, Stimulate<sup>®</sup> e Cellerate<sup>®</sup> isolados ou associados incrementam o vigor das sementes pelo teste de Índice de Velocidade de Emergência.

Tratamentos de sementes de milho com os produtos comerciais Azo Total<sup>®</sup>, Stimulate<sup>®</sup> e Cellerate<sup>®</sup> não incrementam significativamente a produtividade de grãos.

Tratamento de sementes com Azo Total<sup>®</sup>, Stimulate<sup>®</sup> e Cellerate<sup>®</sup> não influenciam os teores foliares de nutrientes em plantas de milho.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBINO, U.B., CAMPO, R.J. **Efeito de fontes e doses de molibdênio na sobrevivência do *Bradyrhizobium* na fixação biológica de nitrogênio em soja.** Pesquisa agropecuária brasileira Brasília, v. 36, n. 3, p. 527-534, 2001.

ALLEONI, B.; BOSQUEIRO, M.; ROSSI, M. **Efeito dos reguladores vegetais de stimulate no desenvolvimento e produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.).** Ciências Agrárias e Engenharias, v. 6, n.1, p. 23-25, 2000.

ARAGÃO, C.A.; DANTAS, B.F.; ALVES, E.; CATANEO, A.C.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J. **Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico.** Revista Brasileira de Sementes, vol. 25, n 1, p.43-48, 2003.

ASHRAF, M.A.; RASOOL, MIRZA, S.M. **Nitrogen Fixation and Indole Acetic Acid Production Potential of Bacteria Isolated from Rhizosphere of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.).** Advances in Biological Research, v.5, n.6, p.348- 355,2011.

ÁVILA, M.R.; BRACCINI, A. de L.; SCAPIM, C.A.; MARTORELLI, D.T.; ALBRECHT, L.P.; FACIOLLI, F.S. **Qualidade fisiológica e produtividade das sementes de milho tratadas com micronutrientes e cultivadas no período de safrinha.** Acta Scientiae Agronomy, Maringá, v.28, n.4, p.535-543, 2006.

BALDANI, J.I.; CARUSO, L.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; DÖBEREINER, J. **Recent advances in BNF with non-legume plants.** Soil Biology and Biochemistry, v.29, p.911-922, 1997.

BALBINOT JR., A. A.; BACKES, R. L.; ALVES, A. C.; OGLIARI, J. B.; FONSECA, J. A. **Contribuição de componentes de rendimento na produtividade de grãos em variedades de polinização aberta de milho.** Revista Brasileira Agrociência, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 161-166, 2005.

BÁRBARO, I.M; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M. **É possível a fixação biológica de nitrogênio no milho?** 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_2/fixacao/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_2/fixacao/index.htm)>. Acesso em: 14 ago. 2013.

BARBOSA FILHO, M.P. Cereais. In: FERREIA, M.E.; CRUZ, M.C.P.; **Micronutrientes na agricultura.** Piracicaba: POTAFOS/ CNPq, 1991. 734p.

BASHAND, Y. & HOGUIN, G. Azospirillum-plant relationship: **Environmental and physiological advances** (1990-1996). Can. J. Microbiology, v.43, p.103-121, 1997.

BARTCHECHEN, A.; FIORI, C.C.L.; WATANABE, S.H.; GUARIDO, R.G. **Efeito da inoculação de *Azospirillum brasiliense* na produtividade da cultura do milho (*zea mays*).** Campo Digita@l, Campo Mourão, v.5, n.1, p.56-59, 2010.

BELOW, F. E. **Fisiologia, nutrição e adubação nitrogenada do milho.** Piracicaba: Potafos, 2002.p. 7-12. (Informações Agrônômicas, 99).

BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo.** 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BERGAMASCHI, C.; ROESCHI, L.F.W.; QUADROS, P.D.; CAMARGO, F.A.O. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a cultivares de sorgo forrageiro.** Ciência Rural, Santa Maria, v.37, n.3, p.727-733, 2007.

BERTOLIN, D. C. et al. **Aumento da produtividade de soja com a aplicação de bioestimulantes.** Bragantia, Campinas, v. 69, n. 2, p. 339-347, 2010.

BODDEY, R.M.; DOBEREINER, J. **Nitrogen fixation associated with grasses and cereal: recent results and perspectives for future research.** Plant and Soil, v.108, p.53-65,1988.

BONNECARRÈRE, R.A.G., LONDERO, F.A.A., SANTOS, O., SCHMIDT, D., PILAU, F.P., MANFRON, P.A. DOURADO NETO, D. **Resposta de genótipos de arroz irrigado à aplicação de zinco.** Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia v.10, p. 214-222,2003.

BORGES, I.D. **Marcha de absorção de nutriente e acúmulo de matéria seca em milho.** 2006. Tese Universidade Federal de Lavras, Lavras MG.

BORGES, I.D.; VON PINHO, R.G., PEREIRA, J.L.A.R.; ALVAREZ, C.G.D. **Efeito das épocas de aplicação da cobertura nitrogenada das fontes de nitrogênio e dos espaçamentos entre fileiras na cultura do milho.** Revista Ceres, v.53, p. 75-81, 2006.

BORGES, I.D.; VON PINHO, R.G., PEREIRA, J.L.A.R. **Micronutrients accumulation at different maize development stages.** Ciência e agrotecnologia, v.33, n.4, p. 1018-1025, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes.** Brasília.Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ ACS, p.148-166, 2009.

BRACCINI, L.A.; DAN, L.G.M.; PICCININ, G.G.; ALBRECHT, L.P.; BARBOSA, M.C.; ORTIZ, A.H.T. **Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associate with the use of bioregulators in maize.** Revista Caatinga, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.

CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. **Importância dos micronutrientes na fixação biológica do N<sub>2</sub>.** Informações Agronômicas, Piracicaba, v.98, p.06-09, 2002.

CAMPOS, B.C. de, THEISEN, S., GNATTA, V. **Avaliação do inoculante "Graminante" nas culturas de trigo e aveia.** Ciência Rural, Santa Maria, v.29, n.3, p.401-407, 1999.

CAMPOS, B.C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. **Avaliação do inoculante "Graminante" na cultura de milho.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 30, n. 4, p. 713-715, 2000.

CANTARELLA, H.; DUARTE, A.P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G. V. **Tecnologias de Produção do milho.** Viçosa, MG: UFV, 2004. p.139-182.

CASILLAS V.J.C.; LONDOÑO I.J.; GUERRERO A.H.; BUITRAGO G.L.A. **Análisis cuantitativo de la aplicación de cuatro bioestimulantes en el cultivo del rabano (*Raphanus sativus* L.)**. Acta Agronomica, v.36, n.2, p.185-195, 1986.

CASTRO, P. R. C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba: Potafos, 2006. 48p. (Série produtor rural,32).

CASTRO, P. R. C., PACHECO, A. C., MEDINA, C. L. **Efeitos de Stimulate e de micro-citros no desenvolvimento vegetativo e na produtividade da laranjeira pêra (*Citrus sinensis* L. osbeck)**. Scientia Agrícola, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 338-341. 1998.

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

CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. S.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F. **Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum spp.*** Revista Brasileira de Engenharia Agrônômica e Ambiental. v. 4, n.1, p. 129-132, 2000.

CERETTA, C.A.; PAVINATO, A.; PAVINATO, P.S.; MOREIRA, I.C.L.; GIROTTO, E.; TRENTIN, E.E. **Micronutrientes na soja: produtividade e análise econômica**. Ciência Rural, v.35, n.3, p.576-581, 2005.

COELHO, A. M. Nutrição e Adubação do Milho. In: **A cultura do Milho**. CRUZ, J.C. et al (Eds). Sete Lagoas: Embrapa milho e sorgo, 2008. 517p.

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. de. **Seja doutor no seu milho**. Piracicaba: IPNI, 1995. (Informações Agrônômicas, 17).

CONAB. Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento. Companhia Nacional de Abastecimento- Conab 2012. **Boletim grãos 2012**. Disponível em : <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12\\_09\\_06\\_09\\_18\\_33\\_boletim\\_graos\\_-\\_setembro\\_2012.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_09_06_09_18_33_boletim_graos_-_setembro_2012.pdf)> Acesso em: 20 ago. 2013.

CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; GARCIA, J.C.; MIRANDA, R.A.de. **Rentabilidade exige híbridos de milho de alta qualidade**. Campo & Negócios, Uberlândia, v. 11, n. 125, p. 18-20, 2013.

CUSTÓDIO, D. P.; PASQUALETTO, A.; OLIVEIRA, I. P. **Comportamento de cultivares de milho (*Zea mays*) e sistemas de cultivo**. Estudos, Goiânia, v. 30, n. 8, p. 1793-1804, 2003.

DECHEN, A. R.; NACHTIGALL, G.R. **Micronutrientes**. In: FERNANDES, M.S ed. Nutrição Mineral de plantas. SBCS, Viçosa, 2006. p.328-352.

DIDONET, A. D.; LIMA, A. S.; CANDATEN, A. A.; RODRIGUES, O. **Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos em trigo submetidos à inoculação de *Azospirillum***. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v. 35, n. 2, p. 401-411, 2000.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J.F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S. & OKON, Y. **Response of agronomically important crops to inoculation with Azospirillum.** Aust. J. Plant Physiol., 28, p.871-879, 2001.

DOBBELAERE, S. & OKON, Y. **The plant growth-promoting effect and plant responses.** In: Associative and Endophytic Nitrogen- Fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations (Elmerich, C.; Newton, W. E. eds). P. 145-170. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2007.

DOBEREINER, J. **The genera Azospirillum and Herbaspirillum.** In BALLOWS, A., TRUPPER, H.G., DWORNING, M., HARDER, W. The Prokaryotes. 2.ed. vol III., p.2236-3353, Springer-Verlag, 1991.

DOTTO, A.P.; LANNA, M.C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J.F. **Produtividade do milho em resposta à inoculação com Herbaspirillum seropedicae sob diferentes níveis de nitrogênio.** Revista Brasileira de Ciências Agrárias, Recife, v.5, n.3, p. 376- 382, 2010.

DOURADO NETO, D. et al. **Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho.** Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia, Uruguaiana, v. 11, n. 1, p. 93-102, 2004.

DUARTE, A. P. Característica e sistemas de produção. In: GALVAO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologias de produção do milho.** Vicosa: UFV, 2004. p. 109-139.

EMBRAPA, CNPMS. **Possibilidades de expansão do milho são debatidas em Belo Horizonte.** Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/noticias/mostranoticia.php?codigo=733>>. Acesso em 11/12/2012.

FAN, T.W.M.; LANE, A.N.; PEDLER, J.; CROWLEY, D.; HIGASHI, R.M. **Comprehensive Analysis of Organic Ligands in Whole Root Exudates Using Nuclear Magnetic Resonance and Gas Chromatography–Mass Spectrometry.** Analytical Biochemistry, n. 251, p. 57- 68, 1997.

FANCELLI, A. L. **Boas práticas para uso eficiente de fertilizante na cultura do milho.** Informações Agronômicas. IPNI, n. 131, 2010.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho.** Guaíba: Agropecuária, 2000. 360 p.

FAVARIN, J. L.; MARINI, J. P. **Importância dos micronutrientes para a produção de grãos.** Rio de Janeiro, 2000. Disponível em: <<http://www.drashirleydecampos.com.br/noticias/4462>>. Acesso em 23/08/2013.

FAVARIN, J. L; TEZOTTO, T. e RAGASSI, C. F. **Uso racional de micronutrientes na cultura de milho (Zea mays L).** In FANCELLI, A. L. (Ed). Milho: nutrição e adubação. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2008. p.204 .

FERREIRA, A. C. B.; ARAUJO, G.A.A.; PEREIRA, P.R.G.; CARDOSO, A.A. **Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco.** Scientia Agricola, v. 58, n. 1, p. 131-138, 2001.

FERREIRA, D.F. **Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0.** In: Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria, 45, 2000, São Carlos. Anais. São Carlos, UFCAR, 2000, p.255-258.

FERREIRA, L. A.; OLIVEIRA, J. A.; VON PINHO, E. V. R.; QUEIROZ, D. L. **Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho.** Revista Brasileira de Sementes, v. 29, n. 2, p. 80-89, 2007.

FLONERAGAN, J.; WEBB, M.J. **Interactions between zinc and other nutrients affecting the growth of plants.** In: ROBSON, A.D. (Ed.) Zinc in soils and plants. Dordrecht : Kluwer, p.119-134, 1993.

FLOSS, E.L.; FLOSS, L.G. **Fertilizantes orgânicos e minerais de última geração: funções fisiológicas e uso na agricultura.** Revista Plantio Direto. Aldeia Norte Editora, Passo Fundo, RS. edição 100, julho/agosto de 2007.

GALLO, J.R. & COELHO, F.A.S. **Diagnose da nutrição nitrogenada do milho pela análise química das folhas.** Bragantia, v.22, p.537-548, 1963.

HAMZA, B.; SUGGARS, A. **Biostimulants: myths and realities.** Turfgrass Trends, Newton, v. 10, p. 6-10, 2001.

HIRSCH, A.M.; LUM, M.R.; DOWNIE, J.A.; **What Makes the rhizobia-legume symbiosis so special.** Plant Physiology, v.127, p.1484-1492, 2001.

HUERGO, L. F. **Regulação do metabolismo do nitrogênio em *Azospirillum brasilense*.** 2006. Tese (Doutorado Pós-Graduação em Ciências Bioquímica) - Ciências Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. 170 p.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36 p. (Documentos, n. 325)

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro.** Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Documentos, n.283)

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F.O. **Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil.** Plant and Soil, v. 331, p. 413-425, 2010.

JONES, J.R., WOLF, B.; MILLIS, H.A. **Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide.** Athens: Micro- Macro, 1991.213p.

JAMES, E. K.; REIS, V. M.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. & DOBEREINER, J. **Infection and colonization of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus***. Journal of Experimental Botany, Oxford, v. 45, p. 757-766, 1994.

KILLORN, R.; ZOURARAKIS, D. **Nitrogen fertilizer management effects on corn grain yield and nitrogen uptake**. Journal of Production Agriculture, v.5, p.142-148, 1992.

KIRKBY, E.A.; RÖMHELD, V. **Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade**. Encarte Técnico. IPNI. Informações agronômicas nº 118 – junho/2007.

LANA, M.C.; DARTORA, J.; MARINI, J.; HANN, J.E.; **Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize**. Revista Ceres, Viçosa, v. 59, n.3, p. 399-405, 2012.

LOPES, A.S. **Manual de fertilidade do solo**. São Paulo: ANDA/POTAFOS,1989. 153p.

LUCHESE, A.V. et al. **Emergência e absorção de cobre por plantas de milho (*Zea mays*) em resposta ao tratamento de sementes com cobre**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 24, n. 6, p. 1949-1952, 2004.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed.San Diego: Academic, 1995. 902 p.

MARTINES,H.E.P.; CARVALHO,J.G.deC.; SOUZA, R.B. **Diagnose Foliar**. In: RIBEIRO,A.C et al. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizante em Minas Gerais (5ª Aproximação)**. Viçosa, CFSEMG, p. 313-316, 1999.

MAPA- Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento - Assessoria de gestão estratégica. **Brasil projeções do agronegócio 2011/2012 a 2021/2022**. Resumo executivo. Brasília, abril de 2012.

MOREIRA, F. M. S. Bactérias fixadoras de nitrogênio que nodulam leguminosas. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras: UFLA, 2008. 768 p.

MORTVEDT, J.J. Sources and methods for molybdenum fertilization in crops. In: GUPTA, U.C. (Ed.). **Molybdenum in agriculture**. New York: Cambridge University Press, 1997. p.171–181.

NORMAN, M.J.T.; PEARSON, C.J.; SEARLE, P.G.E. **The ecology of tropical food crops**. 2 ed. Melbourne: Cambridge University Press, 430p., 1995.

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

OLIVARES, F. L.; JAMES, E. K.; BALDANI, J. I. & DOBEREINER, J. **Infection of mottled stripe disease susceptible and resistant varieties of sugar cane by endophytic diazotroph *Herbaspirillum* spp.** *New Phytology*, Oxford, v. 135, p. 723-737, 1997.

OLIVEIRA, L.J.; CRUZ, I. **Efeito de diferentes inseticidas e dosagens na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.).** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.21, p.578-585, 1986.

ORIOLI JUNIOR, V.; MELLO, P. R.; LEONEL, L. C. CAZETTA, D. A.; SILVEIRA, C. M.; QUEIROZ, R. J. B.; GAMA, B. J. C. H. A. **Modos de aplicação de zinco na nutrição e na produção de massa seca de plantas de trigo.** *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, v. 8, n. 1, p. 28-36, 2008.

PEDRINHO, E.A.N; RENATO, F.G.J; CAMPANHARO, J.C.; ALVES, L.M.C.; LEMOS, E.G.M. **Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho.** *Bragantia*, Campinas, v. 69, n. 4, p.905-911, 2010.

PEREIRA, F.R. da.SILVA.; BRACHTVOGEL, E.L.; CRUZ, S.C.S, SILVIO JOSÉ BICUDO, S.J.; MACHADO, C.G.; PEREIRA, J.C. **Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas com molibdênio.** *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 34, nº 3 p. 450 - 456, 2012.

PIPERNO, D. R.; FLANNERY, K. V. **The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: new accelerator mass spectrometry dates and their implications.** *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, Washington, v. 98, p. 2101-2103, 2001.

RAVEN, P.H; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. Regulando o crescimento e o desenvolvimento: os hormônios vegetais. In: RAVEN, P.H; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. (Ed.). **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.646-675.

RIBEIRO, N.D.; SANTOS, O.S. dos. **Aproveitamento do zinco aplicado na semente na nutrição da planta.** *Ciência Rural*, v.26, p.159-165, 1996.

RIBEIRO, N.D.; SANTOS, O.S.; MENEZES, N.L. **Tratamento de sementes de milho com fontes de zinco e boro.** *Revista Brasileira de Sementes*, v.16, n.2, p.116-120, 1994.

RODRIGUES, T. J. D.; LEITE, I. C. **Fisiologia vegetal: hormônios das plantas.** Jaboticabal, Funep, 2004. 78p.

ROESCH, L.F.; CAMARGO, F.O.; SELBACH, P.A.; SÁ, E.S. **Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo.** *Ciência Rural*, v.35, p.1201-1204, 2005.

ROSOLEM, C.A & FRANCO, G.R. **Translocação de zinco e crescimento radicular em milho.** *R. Bras. Ci. Solo*, v.24, p.807-814, 2000.

RUBIN, S. A. L., SANTOS, O.S., RIBEIRO, N. D., RAUPP, R.O. **Tratamento de sementes de soja com micronutrientes.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.25, n.1, p. 39-44, 1995.

SAGIORATO, J.A. et al. **Adubação com micronutrientes na cultura do milho**. In: Reunião Brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas, 21., Petrolina, 1993. Anais... Petrolina: SBCS/Embrapa, 1993. p. 394-395.

SANTOS, M.M. dos. **Nitrogênio (15N) e atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase na cultura do milho em plantio direto**. 2008. Tese apresentada a Universidade Federal de Viçosa.

SANTOS, P.A.; SILVA, A.F.da.; CARVALHO, M.A.C.; CAIONE, G. **Adubos verdes e adubação nitrogenada em cobertura no cultivo do milho** Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.9, n.2, p.123-134, 2010.

dos SANTOS, A.; TEIXEIRA, K.R.S.; KIRCHHOF, G.; HARTMANN, A.; BALDANI, J.I. **Influence of soil and host plant crop on the genetic diversity of Azospirillum amazonense isolates**. Elsevier, Pedobiologia, v.49, p.567-576, 2005.

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

SENA, M.R. Estabilidade de variedades de milho quanto aos teores de minerais nos grãos. 2010. 84p. Tese (doutorado)- Universidade Federal de Lavras.

SHARMA, S.; ANEJA, M.K.; MAYER, J.; MUNCH, J.C.; SCHLOTTER, M. (2005a) **Diversity of transcripts of nitrite reductase genes (nirK and nirS) in rhizospheres of grain legumes**. Applied Environment Microbiology. v. 71, p.2001-2007, 2005.

SILVA, A. A. O.; FELIPE, T. A.; BACH, E. E. **Ação do Azospirillum brasiliense no desenvolvimento das plantas de trigo (variedade IAC-24) e cevada (variedade CEV 95033)**. Conscientiae Saúde, Universidade Nove de Julho, São Paulo, v. 3, p. 29-35, 2004.

SILVA, D. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; SEMINOTI, R. J. J.; VOSS, M. **Bactérias diazotróficas nas folhas e colmos de plantas de arroz irrigado (Oryza sativa L.)** Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v. 13, n. 2, p. 181-187, 2007.

SILVA, M.A; CATO, S.C; COSTA, A.G.F. **Produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar submetida à aplicação de biorregulador e fertilizantes líquidos**. Ciência Rural, v.40, n.4, 2010.

SILVA, T. T. de A.; VON PINHO, E.V.R; CARDOSO,D.L; FERREIRA,C.A.; ALVIM,P.O; COSTA,A.A.F. **Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes**. Ciência e agrotecnologia, Lavras, v. 32, n. 3, p. 840-846, 2008.

SILVEIRA, P. S.; VIEIRA, E. L.; SANTOS, C. G.; GONÇALVES, C. A. **Stimulate® na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento inicial e produtividade de soja**. Revista Magistra, Cruz das Almas, v. 23, n. 1, p. 67-74, 2011.

SUMMER, M.E. Crop responses to Azospirillum inoculation. Advances in Soil Sciences, New York, v.12, p. 54-123, 1990.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. In: **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 559p.

TANNER, P.D. **The molybdenum requirements of maize in Zimbabwe**. Zimbabwe Agriculture Journal, v.79, p.61-64, 1982.

VASCONCELOS, ANA CAROLINA FEITOSA DE, **Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e de soja**. Piracicaba, 2006, 111p.

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.)**. Piracicaba, 2001. 122. (Tese/Doutorado - ESALQ/USP).

VON PINHO, R.G.; BORGES, I.D.; PEREIRA, J.L.AR.; REIS, M.C. **Marcha de absorção de macronutrientes e acúmulo de matéria seca em milho**. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.8, n.2, p. 157-173, 2009.

ZAIED, K.A.; EL-HADY, A.H.; AFIFY, A.H. & NASSEF, M.A. **Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria**. *Pakist. J. Biology Scienc.*, 4:344-358, 2003.