

**Inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum brasiliense* e enraizador na cultura do milho (*Zea mays*) na segunda safra**

Esmael Lopes Dos Santos<sup>1</sup>, Felipe Augusto Perin<sup>1</sup>, Manoela Andrade Monteiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Universitário FAG – Cascavel – PR

elsantos@fag.edu.br, faperin@gamil.com, mamonteiro@gmail.com

**Resumo:** O objetivo do trabalho foi verificar a influência da bactéria fixadora de Nitrogênio com diferentes doses de enraizador em milho. O experimento foi conduzido a campo, em solo de classificação Latossólico e Roxo Eutrófico, no Município de Medianeira, na safrinha 2012 utilizando a cultivar Pionner 3340 Y sobre semeadura direta. Os tratamentos foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados com 8 tratamentos e 3 repetições, com seguintes tratamentos: T1: sem inoculação da bactéria e sem enraizador; T2: com inoculação da bactéria e sem enraizador; T3: com inoculação da bactéria + metade da dose recomendada do enraizador; T4: com inoculação da bactéria + dose recomendada do enraizador; T5: com inoculação da bactéria + dobro da dose recomendada do enraizador; T6: sem inoculação da bactéria + metade da recomendada do enraizador; T7: sem inoculação da bactéria + dose recomendada do enraizador e T8: sem inoculação da bactéria + dobro da dose recomendada do enraizador. As variáveis avaliadas foram: massa de 1000 sementes (g), altura de planta (m), altura de espiga (m), índice de espigas, plantas quebradas, massa seca da parte aérea e raiz (kg ha<sup>-1</sup>), rendimento de grãos (kg ha<sup>-1</sup>), teste de tetrazólio viáveis e não viáveis (%), teste de germinação (%), comprimento aérea e radicular (cm). As variáveis estudadas foram sensíveis quando houve comparação entre os tratamentos submetidos, no entanto, os resultados não indicaram maiores incrementos de produtividade quando há inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* associada a aplicação de enraizador.

**Palavras-crave:** Inoculante; promotor de crescimento em plantas; Bactérias diazotróficas.

**Inoculation with bacteria *Azospirillum brasiliense* gender and rooter in maize (*Zea mays*) in the second crop**

**Abstract:** This study aimed to investigate the influence of nitrogen-fixing bacteria with different doses of rooting in maize. The experiment was conducted in the field, in soil classification and Purple latossolic Eutrophic, in the Municipality of Mediatrrix, second season 2012 using the cultivar Pioneer 3340 Y on tillage. The treatments were conducted in a randomized block design with 8 treatments and 3 replicates of the following treatments: T1: no bacterial inoculation and without rooting, T2: inoculation with bacteria and without rooting, T3: inoculation with bacteria + half dose recommended rooting; T4: inoculation with bacteria + recommended dose of rooting; T5: inoculation with bacteria + double the recommended dose of rooting, T6: without inoculating the + half the recommended rooting; T7: without inoculation of bacteria + recommended dose of rooting and T8: without inoculating the + double the recommended dose of rooting. The variables evaluated were:

mass of 1000 seeds (g), plant height (m) height of spike (m), ear index, broken plants, dry weight of roots and shoots, grain yield (kg ha<sup>-1</sup>), tetrazolium viable and non-viable (%), germination (%), root and shoot length (cm). The variables studied were sensitive when there was a comparison between the submitted treatments, however, there was no interaction between inoculation with bacteria of the genus *Azospirillum* and rooter.

**Keywords:** Inoculant, plant growth promoter, diazotrophs

### Introdução

O milho (*Zea mays*) é considerado uma das principais espécies utilizadas no mundo, ocupando no Brasil cerca de 13 milhões de hectares, porém a cultura ainda apresenta baixo rendimento, devido a inúmeros fatores (KOZLOWSKI, 2002). Segundo Amado et al. (2002) a produtividade está diretamente influenciada pela quantidade de nitrogênio fornecida a planta pelo fertilizante, por ser o nutriente de maior exigência da cultura, pois são necessários em média 22 kg de nitrogênio (N) para cada 1 tonelada de grãos.

Conforme Scivittaro et al. (2000) o milho dificilmente consegue absorver mais de 50% do valor total de nitrogênio presente no fertilizante, pois, a eficiência no uso do nitrogênio pela planta tem interferência direta pelas condições edafoclimáticas, genética da planta, manejo nutricional, fertilidade do solo, controle de pragas e práticas culturais (AMADO et al., 2002; HOEFT, 2003; FIGUEIREDO et al., 2005).

Formas alternativas para diminuir a utilização de fertilizantes oriundos de combustíveis fósseis que são fontes não renováveis (CANTARELLA, 2007), como o nitrogênio, tem sido estudadas. Vários trabalhos têm sido realizados com a utilização da fixação biológica de nitrogênio (FBN), e os resultados têm mostrado que a FBN pode suplementar ou, até mesmo, substituir a utilização destas fontes de nitrogênio (REIS JÚNIOR et al., 1998; NOVAKOWISKI et al., 2011).

A FBN é um processo de transformação do N<sub>2</sub> na forma inorgânica combinada NH<sub>3</sub>, e a partir daí, em formas reativas orgânicas e inorgânicas. A reação de redução do N<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub> é realizada por microrganismos que contém a enzima nitrogenase e são conhecidos como fixadores de N<sub>2</sub> ou diazotróficos (BERGAMASCHI, 2006). Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) podem auxiliar em diversos mecanismos no desenvolvimento das planta inclusive na nutrição nitrogenada das culturas (Cattelan et al., 2010). As bactérias diazotróficas mais estudadas como RPCPs associativas, são as bactérias pertencentes ao

gênero *Azospirillum* (BASHAN & BASHAN, 2005), destacando-se as espécies *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, isoladas da cultura de milho (REIS et al., 2000).

Vários trabalhos com *Azospirillum* spp tem demonstrado aumento na produtividade de grãos de milho (DOBBELAERE et al., 2002; HUNGRIA et al., 2010), e que o efeito estimulante exercido por este gênero de bactérias tem sido além da FBN, o que tem sido atribuído a produção de fitohormônios (MENDONÇA et al., 2006), como giberilinas, auxinas e citocininas, o que justificam, em parte, os efeitos benéficos observados (FAGES, 1994).

No entanto, resultados da interação bactérias diazotróficas e milho em termos de potencial agrônomico, fixação de nitrogênio ou promoção do crescimento, depende de muitos fatores bióticos e ambientais, tais como genótipo da planta, comunidade microbológica do solo e disponibilidade de nitrogênio (ROESCH et al., 2006).

Para se ter um bom desenvolvimento da planta e uma supressão das necessidades exigidas, é necessário levar em consideração um sistema radicular bem desenvolvido e disposto no solo, para uma melhor absorção e translocação de água e nutrientes (KLUTHCOUSKI E STONE, 2003). Práticas agrônomicas como a utilização de enraizadores tem sido empregada com o objetivo de estimular o desenvolvimento radicular uma melhor estrutura do sistema radicular do milho, fazendo com que tenha um maior aproveitamento do volume do solo e resultando em uma maior tolerância a estresses, e conseqüentemente maior rendimento (VIEIRA e SANTOS, 2005).

Como a cultura do milho também pode ser cultivada após a colheita da soja, prática esta conhecida como milho safrinha, e esta época caracterizada por baixos índices pluviométricos (PENARIOL et al., 2003). A produção por área pode ficar comprometida se a deficiência hídrica coincidir com o período do florescimento, fase que determina a quantidade de óvulos a serem fecundados e, por conseqüência, a produção de grãos. Nesse contexto, dentre as diversas práticas culturais, a escolha do espaçamento entre linhas de semeadura e o número de plantas por área mais adequados são de extrema importância, por determinarem melhor aproveitamento de fatores bióticos como água, luz e nutrientes, para que a cultura possa expressar todo o seu potencial.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi verificar a influencia da inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum brasilense* e enraizador na cultura do milho (*Zea mays*) na safrinha.

### Material e Métodos

O experimento foi conduzido a campo, em solo de classificação Latossólico e Roxo Eutrófico, na comunidade São Miguel Arcanjo no Município de Medianeira-PR, com as seguintes coordenadas 25° 17' 42" S e 54° 05' 38" O.

A implantação do experimento foi realizada na segunda safra da cultura do milho (safrinha) sob semeadura direta, utilizando a cultivar Pionner P 3340Y, com delineamento em blocos casualizados com 8 tratamentos e 3 repetições. Os tratamentos foram: T1: sem inoculação da bactéria e sem enraizador; T2: com inoculação da bactéria e sem enraizador; T3: com inoculação da bactéria + metade da dose recomendada do enraizador; T4: com inoculação da bactéria + dose recomendada do enraizador; T5: com inoculação da bactéria + dobro da dose recomendada do enraizador; T6: sem inoculação da bactéria + metade da dose recomendada do enraizador; T7: sem inoculação da bactéria + dose recomendada do enraizador e T8: sem inoculação da bactéria + dobro da dose recomendada do enraizador.

A densidade de semeadura empregada foi de quatro sementes por metro com espaçamento entre linhas de 0,80 metros. Cada parcela era composta por duas linhas de cinco metros de comprimento, totalizando em 40 plantas por parcela. A adubação e os tratamentos culturais seguiram as recomendações para a cultura, respeitando-se as características químicas do solo e o nível de dano econômico das pragas e doenças para a cultura. A colheita foi realizada manualmente, após a maturidade fisiológica do grão, quando o teor de umidade atingiu uma faixa de 18 a 20%.

As variáveis analisadas foram: altura da planta (m), altura da espiga (m), plantas quebradas, índice de espigas, rendimento de sementes ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), massa de 1000 sementes (g), massa seca da parte aérea e raiz ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) (coletadas seis plantas inteiras por parcela, através de abertura de cova de 30 cm de profundidade 30 cm de largura e 30 cm de comprimento (30X30X30 cm), separado a raiz e a parte aérea), teste de tetrazólio viáveis e não viáveis (%), teste de germinação (%), comprimento aéreo e radicular (cm). Para as determinações de massa, as partes foram submetidas à estufa em 65°C até manter o peso constante.

No laboratório de tecnologia e sementes da Faculdade Assis Gurgacz - FAG localizada em Cascavel - PR, foram realizado o teste de germinação conforme a RAS (BRASIL, 2009), e teste de tetrazólio conforme os critérios estabelecidos por (FRANÇA NETO et al., 1998).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, através do programa SISVAR.

### Resultados e Discussão

Após avaliar os dados, referentes a doses de enraizador associados com e sem *Azospirillum* na cultura do Milho, observou-se que, a variável altura de planta e altura de espiga, conforme na (Tabela 1) não demonstraram diferença significativa entre os tratamentos.

**Tabela 1** - Média da interação entre doses de enraizador associados com e sem *Azospirillum* na cultura do milho para a altura de planta, altura de espiga, índice de espigas, plantas acamadas e plantas quebradas. Medianeira - PR, 2012.

Dose do enraizador	<i>Azospirillum</i>		<i>Azospirillum</i>	
	com	sem	com	sem
	.....Altura de Planta (m) <sup>ns</sup> .....		.....Altura de Espiga(m) <sup>ns</sup> .....	
Metade da dose	2,06	2,12	1,00	1,06
Dose normal	2,15	2,08	1,06	1,15
Dose dupla	2,13	2,13	1,03	1,04
Sem enraizador	2,06	2,15	1,13	1,09
CV%: 1.59			CV%: 1.63	
	.....Índice de Espiga.....		.....Plantas Quebradas.....	
Metade da dose	42,66 b B	43,66 a B	2,00 a C	0,33 b D
Dose normal	41,00 b C	42,00 a C	5,66 a B	1,66 b B
Dose dupla	34,66 b D	41,66 a D	7,66 a A	1,00 b C
Sem enraizador	48,33 a A	46,33 b A	1,66 b D	2,33 a A
CV(%): 12.32			CV%: 6.83	

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. n.s.= não significativo

Segundo Cavallet et al. (2000) com o uso de inoculante, obteve-se aumento na produtividade de grão e no comprimento de espiga, não alterando a altura de plantas. Já Berticelli (2008) demonstrou que o enraizador não apresentou diferença estatística.

No índice de espigas, as diferentes doses de enraizador sem a inoculação da bactéria, os resultados apresentados foram melhores do que com a inoculação da bactéria, mas em contrapartida, à medida que foi trabalhado com a inoculação do *Azospirillum* sem enraizador, se obteve o melhor resultado com um índice de 48,33 espigas na parcela.

Enquanto que Vorpagel (2010), quando trabalhou com a associação de *Azospirillum* e doses de nitrogênio, não obteve diferença estatística entre o número de espigas por parcela.

Quando comparado os tratamentos com e sem *Azospirillum* juntamente com as doses de enraizador, obteve um maior índice de plantas quebradas com dose dupla de enraizador e com *Azospirillum*. Sendo que no tratamento sem *Azospirillum* obteve um número de plantas quebradas inferior ao tratamento com *Azospirillum*. Pode-se ressaltar que o clima do município de Medianeira pode ter influenciado no índice de plantas quebradas em consequência de um período chuvoso durante a fase de pendramento até a época de colheita e a resistência do genótipo escolhido usado para o desenvolvimento do trabalho. Para Shioga et al. (2011) o clima e o tipo do genótipo pode influenciar no índice de acamamento e quebra de plantas.

As médias obtidas na (Tabela 2), em relação à Massa seca da parte aérea e da raiz (kg ha<sup>-1</sup>) apresentam interação quando aplicado *Azospirillum*. Houve diferença estatística somente quando foi inoculado o *Azospirillum* em relação ao tratamento não inoculado, porém isso ocorreu somente quando não foi aplicado o enraizador. Quando não houve aplicação de *Azospirillum*, não houve diferença entre as doses de enraizador, no entanto, quando houve a aplicação de *Azospirillum* a menor média apresentada foi a menor dose de enraizador (metade da dose).

**Tabela 2** - Média da interação entre doses de enraizador associados com e sem *Azospirillum* na cultura do milho para a variável massa seca da parte aérea e raiz. Medianeira - PR, 2012.

Dose do enraizador	com <i>Azospirillum</i>		sem <i>Azospirillum</i>	
	.....Massa seca da parte aérea (kg ha <sup>-1</sup> ).....			
Metade da dose	2.435	a B	2.873	a A
Dose normal	2.593	a AB	2.869	a A
Dose dupla	2.825	a A	2.962	a A
Sem enraizador	3.037	a A	2.597	b A
CV%: 14.13				
	.....Massa seca da raiz (kg ha <sup>-1</sup> ).....			
Metade da dose	1.788	a A	2.138	a A
Dose normal	1.891	a A	2.033	a A
Dose dupla	1.803	a A	2.034	a A
Sem enraizador	1.955	a A	1.584	b B
CV%: 16.61				

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para Ramos et al. (2010) a presença da bactéria fixadora de nitrogênio e/ou adubo nitrogenado não se tem acréscimo apenas na massa seca da raiz mas também na massa seca da parte aérea, assim, quando se tem a ausência do nitrogênio tem-se uma diminuição do rendimento da massa seca da raiz como da massa seca da parte aérea.

Alguns autores citam benefícios da inoculação com *Azospirillum* no desenvolvimento das plantas (OKON & LABANDERA-GONZÁLEZ, 1994; SALAMONE & DÖBEREINER, 1996) em decorrência da produção de fitohormônios por essas bactérias, quando a inoculação modifica a morfologia do sistema radicular das plantas, aumentando não apenas o número de radículas, mas também, o diâmetro das raízes laterais e adventícias. Neste trabalho, verifica-se um aumento na massa da parte aérea e de raiz quando não há associação com o enraizador, sendo a maior média quando houve inoculação.

O fato de muitos trabalhos de inoculação com *Azospirillum* apresentarem respostas distintas, pode ser decorrente das variações no ambiente, solo ou substrato, nas plantas e nos componentes da microflora são consideradas como responsáveis por esta variação entre experimentos (DOBBELAERE *et al.*, 2002). Alguns autores relatam a ausência de respostas à inoculação de sementes de milho com *Azospirillum*. Verona *et al.* (2010) relatam que não houve diferença significativa para as variáveis altura, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz de plantas de milho inoculadas, na presença ou não de fitorreguladores. Da mesma maneira, a aplicação de diferentes doses de inoculante à base dessa bactéria em sementes de milho não promoveu incrementos na massa fresca do sistema radicular e tampouco no acúmulo de massa seca da parte aérea (ROBERTO *et al.*, 2010).

Na (Tabela 3), a viabilidade das sementes avaliadas pelo teste de tetrazólio apresentou maiores médias quando houve inoculação com *Azospirillum* para todas as dosagens em relação ao não inoculado, e entre as dosagens. Para as variáveis porcentagens de germinação, comprimento aéreo e radicular não houve interação e por isso não apresentou diferença significativa.

Na variável comprimento de radícula, as maiores médias foram expressas quando não houve inoculação com *Azospirillum* e com a dose normal de enraizador. Desta forma, o bioestimulante favoreceu o desenvolvimento do sistema radicular nestas condições.

**Tabela 3** - Medias de interação avaliadas pelo teste de germinação e tetrazólio entre, doses de enraizador associados com e sem *Azospirillum* na cultura do milho para viáveis, não viáveis, desenvolvimento aéreo, desenvolvimento radícula, germinadas. Medianeira - PR, 2012.

Dose do enraizador	Viáveis (%) <sup>ns</sup>		Germinadas (%) <sup>ns</sup>	
	com <i>Azospirillum</i>	sem <i>Azospirillum</i>	com <i>Azospirillum</i>	sem <i>Azospirillum</i>
Metade da dose	99,8	97,3	96,0	98,0
Dose normal	98,9	96,8	96,0	95,3
Dose dupla	99,6	98,3	94,0	98,0
Sem enraizador	98,8	97,6	95,3	90,6
CV%:1,65			CV%:3,54	
Dose do enraizador	Comprimento parte aérea (cm) <sup>ns</sup>		Comprimento de radícula (cm)	
	com <i>Azospirillum</i>	sem <i>Azospirillum</i>	com <i>Azospirillum</i>	sem <i>Azospirillum</i>
Metade da dose	4,3	4,0	14,6 a A	15,3 a B
Dose normal	5,0	4,3	15,0 b A	17,3 a A
Dose dupla	3,6	4,0	15,6 a A	14,6 a B
Sem enraizador	3,6	3,3	14,6 a A	12,3 b C
CV%:12,88			CV%:4,82	

<sup>1</sup>Medias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ns: não significativo

Houve interação entre as doses do enraizador e a inoculação ou não da bactéria *Azospirillum*, influenciando o rendimento de grãos kg ha<sup>-1</sup> (Tabelas 4). Quando comparado os tratamentos com *Azospirillum* e sem *Azospirillum* os valores foram sempre próximos. No entanto, a inoculação com *Azospirillum* foi mais efetiva quando não foi utilizado o enraizador, refletindo as respostas demonstradas na massa seca da parte aérea e da raiz (Tabela 2). Resultados semelhantes foram achados por Vorpágel (2010) no qual obteve maiores produtividades com doses de N sem uso de biostimulantes.

Estudos realizados por Campos et al. (1999) ressaltam que, à utilização do inoculante não obteve resposta para rendimento de grãos. Estes autores justificam que isso ocorreu devido à especificidade da bactéria ao genótipo avaliado. Para Bartchechen et al. (2010), a inoculação das sementes de milho com *A. brasiliense*, salienta que efeitos ambientais determinam as respostas da associação entre a inoculação e a espécie, pois nas condições que foram estudadas por ele, não houve incremento na produtividade do milho.

**Tabela 4** - Medias de interação entre doses de enraizador associados com e sem *Azospirillum* na cultura do milho para rendimento (kg ha<sup>-1</sup>). Medianeira - PR, 2012.

Dose do enraizador	com <i>Azospirillum</i>	sem <i>Azospirillum</i>
Metade da dose	6.408 a B	6.292 a AB
Dose normal	6.882 a AB	6.708 a A
Dose dupla	6.876 a AB	6.691 a A
Sem enraizador	7.240 a A	5.876 b B
CV%: 12.02		

<sup>1</sup>Medias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A variável massa de 1000 sementes (Tabela 5) verifica-se que entre os tratamentos a testemunha demonstrou o maior índice com 219,33 gramas, ou seja, ambos a associação de doses de enraizador, com ou sem *Azospirillum*, não demonstraram resultados significativos quando comparados com a testemunha que mostrou maior peso da massa de 1000 sementes.

**Tabela 5** - Médias de interação entre doses de enraizador associados com e sem *Azospirillum* na cultura do milho para massa de 1000 sementes (g). Medianeira - PR, 2012.

Dose do enraizador	com <i>Azospirillum</i>	sem <i>Azospirillum</i>
Metade da dose	209,33 a A	194,00 b D
Dose normal	204,66 b B	213,66 a B
Dose dupla	204,33 a C	203,66 b C
Sem enraizador	204,33 b C	219,33 a A
CV(%): 12.03		

<sup>1</sup>Medias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Segundo Bárbaro et al. (2007), vários aspectos devem merecer atenção dos pesquisadores em se tratando da eficiência da bactéria, ressaltando-se a seleção de estirpes adaptadas às condições locais e às culturas e cultivares usadas em cada região, sendo necessário testar as estirpes de *Azospirillum*, prevalecendo as mais adaptadas às situações de clima e do manejo de culturas.

Quadros (2009) afirma que a efetivação da colonização dependerá de aspectos de escolha da estirpe, estado fisiológico da planta e da bactéria, genótipo da planta, aspectos físico - químicos do solo, competição com outros microorganismos, veículo de inoculação entre outros.

O genótipo é um fator importante para obtenção dos benefícios causados por bactérias diazotróficas endofíticas. Interações entre a cultura do milho e bactérias diazotróficas e/ou promotoras de crescimento, dependem das variações genótípicas de cada planta e dos microorganismos envolvidos nessas associações (REIS JUNIOR, et al., 2008).

### Conclusões

As variáveis estudadas foram sensíveis às comparações entre tratamentos, apresentando respostas pontuais.

Os resultados não indicaram maiores incrementos de produtividade quando há inoculação com bactérias do gênero *Azospirillum* associada a aplicação de enraizador.

### Referências

- ALVES, G. C. **Efeito da inoculação de bactérias dos gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* na cultura do milho**. 2007. 63p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
- AMADO, T.J.C; MIELNICZUK, J; AITA, C. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p. 241-248, 2002.
- BÁRBARO, I.M.; BRANCALIÃO, S.R.; TICELLI, M. Muito conhecida na soja, a fixação biológica do nitrogênio é possível também no milho. **Revista Attalea Agronegócios**, n.15, 2007.
- BARTCHECHEN, A.; FIORI, C.C.L.; WATANABE, S.H.; GUARIDO, R.C. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasiliense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L). **Campo Digital**, v.5, n.1, p. 56-59, Campo Mourão, dez., 2010.
- BASHAN, Y. e de-BASHAN, L.E. Plant growth-promoting. In: HILLEL, D. **Encyclopedia of soil in the environment**. Oxford, Elsevier, 2005. p. 103-115.
- BERTICELLI, E.; NUNES, J. Avaliação do eficiência do uso de enraizado na cultura do Milho. **Revista Cultivando o Saber**, v.1, n.1, p. 34-42, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.
- CAMPOS, B.H.C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Inoculante "Graminante" nas culturas de trigo e aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.23, n.3, p.401-407, 1999.
- CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CANUTO, E.L. **Seleção de bactérias diazotróficas endofíticas para uso com insumo biológico em plantas de cana-de-açúcar oriundas de sementes.** 2003. 72f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

CATTELAN, A. J.; SANTOS, E. L. dos. **Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal e a supressão de doenças radiculares.** In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. (Ed.). Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura. Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 281-302.

CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C. dos S. Produtividade de milho em resposta a aplicação de Nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p. 129-132, 2000.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHES, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 36, n. 4, p. 284-297, 2002.

FAGES, J.. *Azospirillum* inoculants and field experiments. In Y. Okon (ed.), **Azospirillum/plant associations**. CRC Press, Boca Raton, Flórida p. 87-109. 1994.

FIGUEIREDO, C.C. de; RESCK, D.V.S.; GOMES, A.C.; URQUIAGA, S. Sistemas de manejo na absorção de nitrogênio pelo milho em um Latossolo Vermelho no Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 279-287, 2005.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. **O teste de tetrazólio em sementes e soja.** Londrina: EMBRAPA CNPSo, 1998. 72 p. (EMBRAPA. CNPSo. Documentos., 116).

GOMES, M.L **Bactérias Diazotróficas Endofíticas em cultivares de Milho em áreas de Cerrado e Mata no Estado de Roraima.** POSAGRO, Boa Vista, Roraima, Brasil, 2009.

HOEFT, R.G. **Desafios para a obtenção de altas produtividades de milho e de soja nos EUA.** Piracicaba: Potafos, 2003. p. 1-4.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inoculação em rendimento a baixo custo.** Embrapa Soja Londrina, ISSN 2176-2937, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

KENNEDY, I.R., Choudhury, A.T.M.A., Kecskés, M.L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potencial for plant growth promotion be better exploited? **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.36, n.8, p. 1229-1244, 2004.

KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L.F. **Principais fatores que interferem no crescimento radicular das culturas anuais, com ênfase no POTÁSSIO**. Informações Agronômicas, n. 103, p. 05-09, setembro 2003.

KOZLOWSKI, L.A. Período crítico de interferência das plantas daninhas na cultura do milho baseado na fenologia da cultura. **Planta daninha**. Vol.20, n.3 pp. 365-372 . 2002.

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

MORRISSEY, J.P.; DOW, J.M.; MARK, G.L.; O' GARA, F.Y. Are microbes at the root of a solution to world food production? **EMBO Reports**, London, v.5, n.10, p. 922-926, 2004.

NOVAKOWISKI, J.H.; DANDINI, I.E.; FALBO, M.K.; MORAES, A.; NOVAKOWISKI, J.H. e CHENG, N.C. Efeito Residual da Adubação Nitrogenada e Inoculação de *Azospirillum* brasileiro na Cultura do Milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1687-1698, 2011.

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

PENARIOL, F.G.; FORNASIERI FILHO, D.; COICEV, L.; BORDIN, L.; FARINELLI, R. Comportamento de cultivares de milho semeadas em diferentes espaçamentos entre linhas e densidades populacionais, na safrinha. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.2, p.52-60, 2003.

QUADROS, P. D. de. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/17076/000705543.pdf?sequence=1>>. Acesso em 14 de Maio de 2012.

RAMOS, A.S.; SANTOS, T.M.C.; SANTANA, T.M.; GUEDES, E.L.F.; MONTALDO, T.C. Ação do *Azospirillum lipoferum* no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Verde**. Mossoró- RN-Brasil, v.5, n.4, p. 113-117 outubro/ dezembro de 2010.

REIS JUNIOR, F. B. dos; MACHADO, C. T. de T.; MACHADO, A. T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum* amazonense em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 3, p. 1139-1146, 2008.

REIS JÚNIOR, F. B.; DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; MACHADO, A. T. **Seleção de genótipos de milho e arroz mais eficientes quanto ao ganho de N através de fixação biológica de N<sub>2</sub>**. Seropédica: EMBRAPA Agrobiologia, nov. 1998. 23 p. (Documento, n. 73).

REIS JUNIOR, F.B.; MACHADO, C.T.T.; MACHADO, A.T. & SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de nitrogênio. **Revista Brasileira de ciência do solo**, 32:1139-1146, 2008.

REIS, V. M.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Critical Review in Plant Sciences**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 227-247, 2000.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. Resposta da cultura do milho à aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente. In: 28º Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia. Anais, Associação Brasileira de Milho e Sorgo. p.2429-2434, 2010.

SALAMONE, I.E.G.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology and Fertility of Soils**, v. 21, p. 193-196, 1996.

SCIVITTARO, W.B.; MURAOKA, T.; BOARETTO, A.E.; TRIVELIN, P.C.O. Utilização de nitrogênio de adubos verdes e mineral pelo milho. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v.24, p. 917-926, 2000.

SHIOGA, P.S.; GERAGE, A.C.; ARAUJO, P.M.; SERA, G.H.; BIANCO, R. **Avaliação Estadual de Cultivares de Milho Safra 2010/2011**. Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina, 2011.

VERONA, D.A.; DUARTE JÚNIOR, J.B.; ROSSOL, C.D.; ZOZ, T.; COSTA, A.C.T. Tratamento de sementes de milho com Zeavit<sup>(r)</sup>, Stimulate<sup>(r)</sup> e inoculação com *Azospirillum* sp. In: 28º Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia. Anais, Associação Brasileira de Milho e Sorgo. p.3731-3737, 2010.

VIEIRA, E.L.; SANTOS, C.M.G. Estimulante vegetal no crescimento e desenvolvimento inicial do sistema radicular do algodoeiro em rizotrons. In: “V” Congresso brasileiro de algodão, agosto/setembro 2005.

VORPAGEL, A.G. **Inoculação de *azospirillum*, isolado e associado a bioestimulante, em milho, no noroeste do Rs**. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2010.