


ANGELITA APARECIDA COUTINHO PICAZEVICZ



**CRESCIMENTO DO MILHO EM RESPOSTA A *Azospirillum brasilense*,  
*Rhizobium tropici*, MOLIBDÊNIO E NITROGÊNIO**

RIO BRANCO - AC

2017

ANGELITA APARECIDA COUTINHO PICAZEVICZ

**CRESCIMENTO DO MILHO EM RESPOSTA A *Azospirillum brasilense*,  
*Rhizobium tropici*, MOLIBDÊNIO E NITROGÊNIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ferreira Kusdra

RIO BRANCO - AC

2017

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

---

P586c Picazevicz, Angelita Aparecida Coutinho, 1985-  
Crescimento do milho em resposta a *Azospirillum brasilense*,  
*Rhizobium tropici*, molibdênio e nitrogênio / Angelita Aparecida  
Coutinho Picazevicz. – 2017.  
79 f.; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa  
de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Rio Branco, 2017.  
Incluem referências bibliográficas e apêndices.  
Orientador: Prof. Dr. Jorge Ferreira Kusdra.

1. Milho – Crescimento. 2. Adubação nitrogenada. 3. Produção  
vegetal. I. Título.

CDD: 631.84

---

Bibliotecária: Maria do Socorro de Oliveira Cordeiro CRB-11/667

**ANGELITA APARECIDA COUTINHO PICAZEVICZ**

**CRESCIMENTO DO MILHO EM RESPOSTA A *Azospirillum brasilense*,  
*Rhizobium tropici*, MOLIBDÊNIO E NITROGÊNIO**

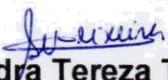
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

APROVADA em 11 de agosto de 2017.

**BANCA EXAMINADORA**

  
**Dr. Jorge Ferreira Kusdra**


Universidade Federal do Acre  
Presidente

  
**Dra. Sandra Tereza Teixeira**

Faculdade Meta  
Membro

  
**Dra. Janiffe Peres de Oliveira**

Instituto Federal do Acre  
Membro

  
**Dr. Elias Melo de Miranda**

Embrapa Acre  
Membro

  
**Dr. Elder Ferreira Morato**

Universidade Federal do Acre  
Membro

RIO BRANCO - AC

2017

Aos meus pais,  
José Coutinho e Darci dos Santos Coutinho e  
ao meu esposo Carlos Alexandre Picazevicz

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida.

A Nossa Senhora Aparecida por todas as intercessões e bênçãos.

Aos meus pais, José Coutinho e Darci dos Santos Coutinho pelo incentivo, acompanhamento, aconselhamentos e apoio em toda minha vida.

Ao meu esposo, Carlos Alexandre Picazevicz, pelo apoio, companheirismo, compreensão e por tornar esse sonho nosso.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jorge Ferreira Kusdra pelos ensinamentos e orientações em diferentes áreas do conhecimento. Obrigada, também, pela amizade, dedicação, compreensão, paciência e pela oportunidade de aprendizagem.

A Universidade Federal do Acre, especialmente ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal por oportunizar a qualificação na região norte do Brasil.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal pelos ensinamentos e por todas as contribuições.

A Andreia de Lima Moreno pelos ensinamentos de metodologias de laboratório, pelas contribuições na execução do experimento e na redação de trabalho científico. Obrigada por todas as contribuições e convivência.

A Josilene Ferreira Rocha pelas contribuições na realização da pesquisa e pela convivência.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia por oportunizar a realização do doutorado. Especialmente ao *Campus Cacoal*.

A UNESC Faculdades Integradas de Cacoal por permitir a utilização de laboratórios e de equipamentos. Agradeço a todos os servidores.

A FAPAC pela concessão de bolsa de estudo.

A Waldiane Araújo de Almeida pela colaboração na instalação de experimento e pela disponibilidade em auxiliar.

A Dheimy da Silva Novelli pelos incentivos, colaboração e amizade.

A Daniela Popim Miqueloni pelos incentivos e convivência.

Aos colegas da Pós-graduação em Produção Vegetal pela convivência.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização dessa etapa acadêmica.

“O segredo da vida é o solo, porque do solo dependem as plantas,  
a água, o clima e a nossa vida. Tudo está interligado.  
Não existe ser humano sadio se o solo não for sadio  
e as plantas, nutridas.”

Ana Primavesi

## RESUMO

A coinoculação das sementes de milho com rizobactérias, combinada com a aplicação de molibdênio nas mesmas, pode constituir-se em alternativa promissora para minimizar o uso da adubação nitrogenada ou potencializar seu efeito em aumentar o crescimento e produção das plantas como, também, reduzir os custos econômico, ambiental e operacional associados à esta prática. Neste sentido, o objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos isolados e combinados de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, nitrogênio e molibdênio no crescimento do milho. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, sendo o primeiro na Universidade Federal do Acre, em Rio Branco, Acre e o segundo no Instituto Federal de Rondônia, em Cacoal, Rondônia, ambos no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. No primeiro foi avaliado o crescimento do milho variedade AL Bandeirante em resposta a tratamentos dispostos em esquema fatorial 2 x 2 x 2 x 5 caracterizado pela ausência e presença de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio como, também, a cinco doses de molibdênio. No segundo avaliou-se o crescimento do milho híbrido duplo AG 1051 com tratamentos distribuídos em esquema fatorial 2 x 2 x 2 x 2 definido pela ausência e presença de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, molibdênio e nitrogênio. As variáveis avaliadas em ambos experimentos foram altura da planta, diâmetro basal do colmo, nitrogênio acumulado na parte aérea e massas secas da folha, colmo, parte aérea, raiz e total. No milho AL Bandeirante não foi observado efeito isolado e/ou combinado do molibdênio em qualquer variável. Porém, quando não se efetuou a adubação nitrogenada, tanto a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* como a coinoculação deste com *Rhizobium tropici* foram eficientes em aumentar o crescimento das plantas. Também se verificou que a adubação nitrogenada do solo na semeadura foi menos eficiente em promover o crescimento das plantas do que quando combinada à inoculação das sementes com *Rhizobium tropici*. No milho AG 1051 a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* potencializou o efeito da adubação nitrogenada em aumentar a quantidade de nitrogênio acumulada na parte aérea das plantas. Além disso, tanto *Azospirillum brasilense* quanto *Rhizobium tropici*, combinados com a adubação molíbdica, foram eficientes em aumentar o acúmulo de nitrogênio na parte aérea do milho.

Palavras-chave: *Zea mays*. RPCPs. Coinoculação. FBN. Fertilizantes químicos.



## ABSTRACT

The co-inoculation of corn seeds with rhizobacteria, combined with the application of molybdenum in them, may be a promising alternative to minimize the use of nitrogen fertilization or potentiate its effect in increasing plant growth and production, as well as reducing economic, environmental and operational costs associated with this practice. In this sense, the objective of this research was to evaluate the isolated and combined effects of *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, nitrogen and molybdenum on maize growth. Two experiments were carried out under greenhouse conditions, the first being at the Federal University of Acre, in Rio Branco, Acre and the second at the Federal Institute of Rondônia, in Cacoal, Rondônia, both in a completely randomized design with five replications. In the first one, the growth of the variety AL Bandeirante was evaluated in response to treatments arranged in a 2 x 2 x 2 x 5 factorial scheme characterized by the absence and presence of *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* and nitrogen as well as five doses of molybdenum. The second one evaluated the growth of double hybrid corn AG 1051 with treatments distributed in a 2 x 2 x 2 x 2 factorial scheme defined by the absence and presence of *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, molybdenum and nitrogen. The variables evaluated in both experiments were plant height, stem basal diameter, accumulated nitrogen in shoot and dry leaf mass, shoot, shoot, root and total. In the AL Bandeirante corn, no isolated and / or combined molybdenum effect was observed in any variable. However, when the nitrogen fertilization was not carried out, both the inoculation of the seeds with *Azospirillum brasilense* and its co-inoculation with *Rhizobium tropici* were efficient in increasing the growth of the plants. It was also verified that the nitrogen fertilization of the soil at sowing was less efficient in promoting the growth of the plants than when combined with the inoculation of the seeds with *Rhizobium tropici*. In AG 1051 maize seed inoculation with *Azospirillum brasilense* potentiated the effect of nitrogen fertilization on increasing the amount of nitrogen accumulated in the aerial part of the plants. In addition, both *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium tropici*, combined with the molybdenum fertilization, were efficient in increasing the accumulation of nitrogen in the aerial part of the corn.

**Key-words:** *Zea mays*. PGPR. Co-inoculation. BNF. Chemical fertilizers.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massas secas do colmo (MSC), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de plantas de milho AL Bandeirante em função da interação entre <i>Azospirillum brasilense</i> e nitrogênio.....	36
Tabela 2 - Massas secas do colmo (MSC), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de plantas de milho AL Bandeirante em função da interação entre <i>Rhizobium tropici</i> e nitrogênio.....	37
Tabela 3 - Altura (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF) e parte aérea (MSPA) de plantas de milho AL Bandeirante em função da interação entre <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Rhizobium tropici</i> e nitrogênio.....	38
Tabela 4 - Efeito do nitrogênio na Altura (AP), massas secas do colmo (MSC), parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) de plantas de milho AG 1051.....	42
Tabela 5 - Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de plantas de milho AG 1051 em função da interação entre <i>Azospirillum brasilense</i> e nitrogênio.....	43
Tabela 6 - Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de plantas de milho AG 1051 em função da interação entre <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Rhizobium tropici</i> e molibdênio.....	44

## LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE A – Pressupostos da análise de variância da altura da planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF), colmo (MSC), parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), do milho AL Bandeirante, pelos testes de Bartlett (homogeneidade de variâncias) e de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros)..... 63
- APÊNDICE B – Pressupostos da análise de variância da altura da planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF), colmo (MSC), pendão (MSP), parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), do milho AG 1051, pelos testes de Bartlett (homogeneidade de variâncias) e de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros)..... 63
- APÊNDICE C – Análise de variância da altura da planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC) e massas secas da folha (MSF) e do colmo (MSC) do milho AL Bandeirante do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Rio Branco, AC, 2015..... 64
- APÊNDICE D – Análise de variância das massas secas da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AL Bandeirante do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Rio Branco, AC, 2015..... 65
- APÊNDICE E – Análise de variância da altura da planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC) e massa seca da folha (MSF) do milho AG 1051 do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Cacoal, RO, 2016..... 66
- APÊNDICE F – Análise de variância das massas secas do colmo (MSC), pendão (MSP) e parte aérea (MSPA) do milho AG 1051 do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Cacoal, RO, 2016..... 67
- APÊNDICE G – Análise de variância das massas secas da raiz (MSR) e total (MST) e do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AG 1051 do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Cacoal, RO, 2016.... 68
- APÊNDICE H – Desdobramento da análise de variância da altura da planta (AP) do milho AL Bandeirante, considerando a interação tripla de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio..... 69
- APÊNDICE I – Desdobramento da análise de variância do diâmetro basal do colmo (DBC) do milho AL Bandeirante, considerando a interação tripla de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio..... 70

APÊNDICE J – Desdobramento da análise de variância da massa seca da folha (MSF) do milho AL Bandeirante, considerando a interação tripla de <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Rhizobium tropici</i> e nitrogênio.....	71
APÊNDICE K – Desdobramento da análise de variância da massa seca do colmo (MSC) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de <i>Azospirillum brasilense</i> e nitrogênio.....	72
APÊNDICE L – Desdobramento da análise de variância da massa seca do colmo (MSC) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla <i>Rhizobium tropici</i> e nitrogênio.....	72
APÊNDICE M – Desdobramento da análise de variância da massa seca da parte aérea (MSPA) do milho AL Bandeirante, considerando a interação tripla de <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Rhizobium tropici</i> e nitrogênio.....	73
APÊNDICE N – Desdobramento da análise de variância da massa seca da raiz (MSR) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de <i>Azospirillum brasilense</i> e nitrogênio.....	74
APÊNDICE O – Desdobramento da análise de variância da massa seca da raiz (MSR) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de <i>Rhizobium tropici</i> e nitrogênio.....	74
APÊNDICE P – Desdobramento da análise de variância da massa seca total (MST) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de <i>Azospirillum brasilense</i> e nitrogênio.....	75
APÊNDICE Q – Desdobramento da análise de variância da massa seca total (MST) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de <i>Rhizobium tropici</i> e nitrogênio.....	75
APÊNDICE R – Desdobramento da análise de variância do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de <i>Azospirillum brasilense</i> e nitrogênio.....	76
APÊNDICE S – Desdobramento da análise de variância do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de <i>Rhizobium tropici</i> e nitrogênio.....	76
APÊNDICE T – Desdobramento da análise de variância do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AG 1051, considerando a interação dupla de <i>Azospirillum brasilense</i> e nitrogênio.....	77
APÊNDICE U – Desdobramento da análise de variância do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AG 1051, considerando a interação tripla <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Rhizobium tropici</i> e molibdênio.....	78

APÊNDICE V – Análise de variância do desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos em um contraste comparando ausência e presença de molibdênio das variáveis altura da planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF) e do colmo (MSC) do milho AL Bandeirante.....	79
APÊNDICE W – Análise de variância do desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos em um contraste comparando ausência e presença de molibdênio das variáveis massas secas da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AL Bandeirante.....	79

## LISTA DE SIGLAS

Ab	<i>Azospirillum brasilense</i>
AIA	Ácido indolacético
AP	Altura da planta
CV	Coeficiente de variação
DBC	Diâmetro basal do colmo
Dt	Dentro
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio
Fe	Ferro
GL	Graus de liberdade
IFRO	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia
K	Potássio
Mo	Molibdênio
MSC	Massa seca do colmo
MSF	Massa seca da folha
MSP	Massa seca do pendão
MSPA	Massa seca da parte aérea
MSR	Massa seca da raiz
MST	Massa seca total
N	Nitrogênio
NAPA	Nitrogênio acumulado na parte aérea
P	Fósforo
QM	Quadrado médio
RDCPs	Rizobactérias deletérias do crescimento de plantas
RPCPs	Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas
Rt	<i>Rhizobium tropici</i>
UFAC	Universidade Federal do Acre
UFC	Unidades formadoras de colônia

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
2.1 MILHO.....	16
2.1.1 Aspectos botânicos.....	16
2.1.2 Estádios fenológicos.....	17
2.1.3 Demanda nutricional.....	18
2.2 NITROGÊNIO.....	19
2.3 MOLIBDÊNIO.....	21
2.4 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO.....	22
2.5 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS.....	23
2.6 <i>Azospirillum brasilense</i> .....	25
2.7 RIZÓBIOS.....	26
2.8 COINOCULAÇÃO.....	27
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
3.1 EXPERIMENTO 1.....	29
3.2 EXPERIMENTO 2.....	32
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	35
4.1 EXPERIMENTO 1.....	35
4.2 EXPERIMENTO 2.....	41
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	47
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	48
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	49
<b>APÊNDICES</b> .....	62

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) é utilizado mundialmente para a alimentação humana e nutrição animal como uma fonte energética devido à alta concentração de carboidrato, sendo que a massa total do grão é constituída predominantemente por amido. Além disso, apresenta importância social em razão da demanda de trabalhadores no cultivo que é realizado tanto na agricultura familiar quanto no agronegócio.

No Brasil o custo de produção do milho é elevado, sendo que dos insumos utilizados os fertilizantes normalmente correspondem ao maior percentual. Entre os principais nutrientes requeridos pelas plantas está o nitrogênio. Segundo Cantarella (2007) para a faixa de produtividade de 3 a 12 t.ha<sup>-1</sup> a quantidade de N extraído pelas plantas é de 84 a 336 kg.ha<sup>-1</sup>. Quando os adubos nitrogenados são aplicados ao solo o nitrogênio apresenta possibilidades de perdas, principalmente, por volatilização e lixiviação. Além disso, o processo industrial de síntese de adubos nitrogenados é complexo e demanda alto gasto energético. Neste sentido, são utilizados derivados do petróleo, fontes não renováveis (MARIN et al., 1999).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) representa uma alternativa menos impactante ao ecossistema do que a obtenção de adubos nitrogenados por via industrial. Este processo biológico é realizado por bactérias diazotróficas que fixam nitrogênio atmosférico. O milho, por exemplo, é uma poácea que pode ser beneficiada pela FBN por meio da ação de bactérias associativas como *Azospirillum brasilense*. Este microrganismo disponibiliza ao milho apenas parte do N fixado. Entretanto, além da atividade diazotrófica pode ter ação, também, de rizobactéria promotora do crescimento das plantas (RPCPs). As atividades dos microrganismos denominados RPCPs podem incluir diversos mecanismos como solubilização de fósforo, produção de fitohormônios e biocontrole de fitopatógenos. Portanto, esse processo biológico pode contribuir para reduzir os custos com adubos nitrogenados.

Os microrganismos edáficos são diversificados e dificilmente ocorrem de forma isolada. Esta situação possibilita a interação entre diferentes organismos que produzem inúmeros efeitos nas plantas. A diversificação de microrganismos potencialmente benéficos aos vegetais, promovida de forma seletiva por meio da coinoculação de bactérias, vem sendo explorada (DARTORA et al., 2016b; MAZZUCHELLI et al., 2014) para aumentar a eficiência da fixação biológica do nitrogênio no milho e também o crescimento e produção das plantas. Relacionado a isto, bactérias diazotróficas como



*Rhizobium tropici*, por exemplo, que é recomendada para a FBN em feijoeiro pode, também, apresentar ação como RPCPs, contribuindo no crescimento de poáceas como o milho. Dessa forma, a coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* pode aumentar o crescimento das plantas e a disponibilidade de N para as mesmas.

O aproveitamento do nitrogênio pelo milho, disponibilizado via FBN e por meio da adubação nitrogenada, pode ser potencializado pela coinoculação de RPCPs, assim como pela aplicação de micronutrientes como o molibdênio. Esse elemento participa da composição e ativação das enzimas nitrogenase, envolvida na FBN e redutase do nitrato que viabiliza o aproveitamento do N pela planta. Dessa forma, o acúmulo de N pelo milho pode aumentar devido à disponibilidade desse micronutriente que propicia a utilização do nitrogênio atmosférico e contribui na assimilação do N na forma de nitrato.

A utilização conjunta de molibdênio e rizobactérias pode contribuir para o crescimento do milho, além de apresentar viabilidade econômica e acessibilidade aos agricultores reduzindo, também, o consumo de adubos nitrogenados cujo uso pode ter efeitos negativos no meio ambiente. Por outro lado, o uso combinado desses fatores pode potencializar o efeito da adubação nitrogenada. Diante disso, o objetivo da pesquisa foi avaliar os efeitos isolados e combinados de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, nitrogênio e molibdênio no crescimento do milho.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Fatores bióticos, abióticos e de manejo interferem no crescimento, desenvolvimento e produção do milho, sendo recomendado, portanto, o uso de técnicas que garantam rendimentos sustentáveis e satisfatórios (CRUZ et al., 2010). Para o milho, *Azospirillum brasilense* por meio da FBN e ação como RPCPs, pode contribuir para aumentar a produtividade da cultura, reduzir o consumo de adubo nitrogenado e/ou potencializar seu efeito (KANEKO et al., 2015). Com estes mesmos objetivos, podem ser utilizados na cultura micronutrientes como o molibdênio e outras espécies de bactérias diazotróficas, por exemplo, rizóbios (HOSSAIN; MARTENSSON, 2008; BROCH; RANNO, 2016).

### 2.1 MILHO

O milho apresenta metabolismo fotossintético C4 o que o torna eficiente no uso de CO<sub>2</sub> e no aproveitamento da radiação solar (CRUZ et al., 2011). Condições climáticas como luminosidade, temperatura e precipitação também interferem no crescimento, desenvolvimento e produção dessa espécie. Além disso, atributos químicos, físicos e biológicos do solo devem ser satisfatórios para atender a demanda dessa poácea (LANDAU et al., 2009).

#### 2.1.1 Aspectos botânicos

O milho apresenta como ancestral o teosinto que é encontrado na América Central e corresponde a uma poácea com várias espigas. A seleção da espécie ocorreu de forma artificial, realizada pelo homem por meio visual, com objetivos de atingir altas produtividades, obter resistência a doenças e ter capacidade de adaptação (MARQUES, 2016). Botanicamente pertence à divisão Anthophyta, classe Monocotyledonae, ordem Poales, família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae, gênero *Zea*, espécie *Zea mays* (PINHO et al., 2015).

Apresenta monoícia, órgãos femininos (espiga) e masculinos (pendão) na mesma planta em inflorescências diferentes. A seleção natural e a domesticação resultou em uma espécie anual e ereta, sendo que a altura depende da cultivar, podendo ter características vegetativas e reprodutivas modificadas por interações genótipo/ambiente (MAGALHÃES et al., 2002).

A semente é um fruto do tipo cariopse, constituído de pericarpo, endosperma e embrião (BARROS; CALADO, 2016). A raiz é fasciculada, primária e adventícia, sendo que a maior concentração dessas ocorre nos primeiros 30 cm (VIEIRA JÚNIOR, 1999). O caule é um colmo ereto com nós e entrenós cujo número pode variar de 10 a 25. Apresenta folhas alternadas com inserção em nós e bainha (PINHO et al., 2015). A inflorescência masculina é uma panícula e a feminina é espiga axilar (BARROS; CALADO, 2016).

### 2.1.2 Estádios fenológicos

O milho apresenta duas fases, sendo vegetativa e reprodutiva. A primeira é composta dos seguintes estádios: emergência (VE), V1 (1 folha) a Vn (número da última folha expandida) e pendoamento (VT). A segunda é constituída de: florescimento (R1), grão leitoso (R2), grão pastoso (R3), grão farináceo (R4), grão farináceo-duro (R5) e maturidade fisiológica (R6) (RITCHIE et al., 2003).

A germinação do milho ocorre em condições ideais de temperatura e umidade do solo (BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014). Essa etapa é desencadeada pela embebição e absorção de oxigênio, podendo ter a duração influenciada pela profundidade de semeadura (FANCELLI, 2015). Neste sentido, a emergência ocorre entre quatro a cinco dias após a semeadura por meio do crescimento do mesocótilo que é uma estrutura localizada entre a semente e o primeiro nó (WEISMANN, 2016).

A fase vegetativa do milho é definida pela formação visível de um colar da bainha foliar com o colmo, sendo que essa condição permite avaliar o número de folhas expandidas (FANCELLI, 2015). Assim, os estádios de V1 a Vn são definidos pela contagem das folhas e caracterizados por períodos de tempo que podem variar a depender do genótipo e das condições ambientais (CRUZ et al., 2008a).

O pendoamento, denominado também de VT, inicia quando o último rácemo do pendão está totalmente visível. Nessa etapa do desenvolvimento a planta atingirá aproximadamente a altura máxima e terá início a polinização (RITCHIE et al., 2003). Além disso, neste estágio todas as folhas estarão expostas, sendo que perdas intensas destas podem resultar em redução da produção de grãos (WEISMANN, 2016).

A fase reprodutiva inicia no estágio fenológico R1 por meio da polinização e determinação do número de óvulos fertilizados. No R2 a espiga está próxima do tamanho máximo, ocorrendo início do acúmulo de amido e consequente matéria seca pelos grãos (RITCHIE et al., 2003). O próximo estágio é o R3 em que há definição dos

grãos e a densidade desses corresponde a aproximadamente 80% de umidade. Posteriormente, em R4 os grãos estão com cerca da metade da massa que vão atingir na maturidade e, em R5, há a formação do “dente”, apresentando transição de pastoso para farináceo. O R6 é denominado de maturidade fisiológica, sendo que neste ocorre paralisação do acúmulo de massa nos grãos (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

### 2.1.3 Demanda nutricional

No milho os macronutrientes absorvidos em maiores quantidades, em ordem crescente, são: nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo (COELHO; RESENDE, 2008). Segundo Coelho e França (2016) a translocação de macronutrientes para as sementes ocorre aproximadamente nas seguintes proporções: fósforo (85%), nitrogênio (75%), enxofre (60%), magnésio (50%), potássio (25%) e cálcio (12,5%).

O nitrogênio estimula o crescimento da parte aérea e das raízes das plantas, sendo que a influência nessa última estrutura é em função de participar da síntese de citocinina. Portanto, esse nutriente é fundamental no estágio V4, uma vez que, o sistema radicular está em amplo desenvolvimento (FORNASIERI FILHO, 2007).

O fósforo é translocado em maior percentual para a composição das sementes (CANTARELLA; DUARTE, 2014). De acordo com Veloso et al. (2012) há aumento de produtividade com o incremento dos níveis de fósforo, independente da fonte e forma de aplicação. Porém, Frandoloso et al. (2010) observaram maiores teores de P no tecido foliar quando foi utilizado superfosfato triplo.

O potássio é absorvido em maior quantidade no período de 30 a 40 dias de desenvolvimento da planta (COELHO et al., 2011). Rodrigues et al. (2014) verificaram que doses crescentes até 120 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O aumentam o nível do potássio nas folhas e o teor de clorofila nas plantas. Contudo, os autores constataram que a máxima produtividade ocorreu com a aplicação de 83,5 kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O.

Embora os micronutrientes sejam necessários em pequenas quantidades a deficiência destes é considerada fator limitante para o milho (COELHO, 2006). Leite et al. (2003) observaram incremento de matéria seca e teores foliares dos micronutrientes B, Zn, Cu e Mn em plantas de milho por meio da aplicação destes ao solo.

A disponibilidade de nutrientes no ambiente edáfico é influenciada também pela acidez e alta concentração de Al trocável que limita o desenvolvimento da planta e a produção agrícola (CAIRES, 2013). Porém, esses fatores podem ser superados

pela prática da calagem que corrige a acidez do solo, eleva o pH, disponibiliza cálcio e magnésio contribuindo, ainda, para o aumento dos níveis de alguns nutrientes na solução do solo (VERGÜTZ; NOVAIS, 2015). Melo et al. (2011) realizaram estudo acerca da calagem e níveis de enxofre em milho e observaram que as doses mais elevadas de calcário tiveram efeito residual para Ca e Mg. Os autores verificaram também que todos os macronutrientes e alguns micronutrientes (Mn, Zn e Fe) aumentaram o teor na massa seca da planta, apresentando resposta quadrática de acordo com os níveis de calcário.

## 2.2 NITROGÊNIO

O nitrogênio compõe proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucléicos, clorofilas e está relacionado, principalmente, ao cloroplasto na planta (FORNASIERI FILHO, 2007). Dessa forma, para a metabolização de diversos compostos é essencial à disponibilidade do N, uma vez que, o mesmo está relacionado ao crescimento, desenvolvimento e rendimento de grãos (FRANÇA et al., 2011).

As plantas absorvem o nitrogênio como amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) que representam valor inferior a 2% do N total do solo, sendo que maior quantidade desse elemento está presente na matéria orgânica (FORNASIERI FILHO, 2007). A entrada de nitrogênio no solo pode ocorrer por deposições atmosféricas de formas combinadas de N ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ), via FBN e por meio da adição de fertilizantes nitrogenados. Por outro lado, as saídas ocorrem pelo processo de volatilização de amônia ( $\text{NH}_3$ ), desnitrificação ( $\text{N}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ) e lixiviação de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (CANTARELLA, 2007).

A absorção de nitrogênio pelo milho é superior nos estádios fenológicos de seis folhas expandidas ao pendoamento, sendo que 70% desse nutriente é absorvido até o estágio VT (COELHO, 2016). Portanto, quantidades adequadas de N propiciam o crescimento vegetativo e estão relacionadas à resposta positiva dos componentes de produção como massa, grãos e comprimento da espiga (FERREIRA et al., 2010). Cruz et al. (2008b) avaliaram o efeito de níveis de nitrogênio no crescimento do milho e observaram que doses superiores a 90 e 85  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  não contribuem para o aumento da altura e diâmetro do colmo das plantas, respectivamente.

O nitrogênio pode ser disponibilizado no solo via compostos orgânicos e/ou adubos sintéticos. Para esta última forma há diferentes fontes comerciais como a ureia, por exemplo, que é o principal adubo nitrogenado sólido usado no Brasil (CANTARELLA; DUARTE, 2014). Souza et al. (2011) não constataram diferenças de

produtividade de milho em resposta a aplicação de sulfonitrato de amônio, sulfato de amônio e ureia. Carmo et al. (2012) também verificaram resultados similares para variáveis de crescimento e rendimento quando utilizaram diferentes fontes de N.

A aplicação de adubo nitrogenado na cultura do milho pode ser realizada antes da semeadura, simultânea a esta e em cobertura (COELHO, 2016). Meira et al. (2009) verificaram que a produtividade de milho aumentou quando foram aplicados níveis de 30 a 120 kg.ha<sup>-1</sup> de nitrogênio em cobertura. Queiroz et al. (2011) observaram que 120 kg.ha<sup>-1</sup> de N em cobertura proporcionou maior retorno econômico. Gomes et al. (2007) constataram aumento no rendimento de grãos a medida que se elevou as doses de nitrogênio até 150 kg.ha<sup>-1</sup>.

Aubos nitrogenados podem ser aplicados por incorporação, a lanço na superfície do solo e via foliar (COELHO, 2016). Deuner et al. (2008) constataram que essa última forma de disponibilização de nitrogênio aumentou a altura da planta e a concentração de nitrogênio no milho. Contudo, os autores ressaltam que esse método deve ser utilizado como complementar e não como único modo de disponibilizar esse nutriente para as plantas.

No solo podem ocorrer perdas de nitrogênio em função do comportamento dinâmico desse elemento no ambiente edáfico. Assim, com o objetivo de minimizar esta situação, reduzir custos de produção e ter os benefícios do nutriente para a planta é que pesquisas quanto ao método de aplicação dos adubos nitrogenados têm sido realizadas (ARATANI et al., 2006; BIESDORF et al., 2016). Dessa forma, Calonego et al. (2012) analisaram a aplicação de nitrogênio via foliar em milho, utilizando duas fontes e quatro níveis de N e verificaram que as doses de ureia não tiveram efeito na altura e diâmetro das plantas. Por outro lado, sulfato de amônio ocasionou redução linear do crescimento.

O nitrogênio pode se tornar um poluente ambiental quando disponibilizado em quantidades excessivas no solo com conseqüente formação, por exemplo, de diferentes compostos como NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> que quando saem do sistema por meio dos processos de volatilização (NH<sub>3</sub>), desnitrificação (N<sub>2</sub>O) e lixiviação (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) podem desencadear a poluição das águas subterrâneas e/ou superficiais, destruição da camada de ozônio e contribuir, também, para intensificação do efeito estufa (CARVALHO; ZABOT, 2012; GARCIA et al., 2013). A preocupação quanto ao impacto dos fertilizantes nitrogenados no meio ambiente tem sido objeto de várias pesquisas (ABDALLA et al., 2016; SIGNOR et al., 2013; ZHANG et al., 2017).

### 2.3 MOLIBDÊNIO

A deficiência de molibdênio nas plantas é limitante, uma vez que, este atua na composição e atividade de enzimas como a nitrogenase, indispensável para a fixação biológica de nitrogênio, e redutase do nitrato, essencial para o aproveitamento do nutriente absorvido pela planta (VIEIRA, 2006).

Na solução do solo o molibdênio ocorre como molibdato ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ), forma química em que é absorvido pelas plantas. A disponibilidade desse micronutriente pode aumentar com a elevação do pH (ABREU et al., 2007). Segundo Sfredo e Oliveira (2010) a absorção de  $\text{MoO}_4^{2-}$  ocorre quando o pH é igual ou maior que 5,0. Neste sentido, Primavesi (2002) destaca que quando é realizada a calagem o molibdênio fixado é mobilizado e torna-se disponível no meio.

Por ser indispensável ao processo de assimilação do nitrato a deficiência de molibdênio pode ser negativa ao metabolismo do nitrogênio (TAIZ; ZEIGER, 2009). Apesar da demanda desse micronutriente pelos vegetais ser baixa, a ausência do mesmo compromete o crescimento, desenvolvimento e produção (FAVARIN et al., 2008). No milho Valentini et al. (2005) observaram acréscimos no teor de nitrogênio nas folhas quando realizada a adubação molíbdica e aplicação de  $50 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  de nitrogênio.

A forma de aplicação dos micronutrientes é abordada em diferentes culturas (ASCOLI et al., 2008; DOURADO NETO et al., 2012; VAZQUEZ; SANCHES, 2010). No milho a adubação molíbdica pode ser realizada nas sementes, diretamente no solo ou via foliar (TEIXEIRA, 2006). Para Pereira (2010) as três formas são equivalentes. Entretanto, a primeira resulta em maior eficiência na utilização de molibdênio pela planta. Porém, segundo Pereira et al. (2012), doses crescentes de molibdênio via sementes de milho podem comprometer a qualidade fisiológica destas.

Segundo Cruz et al. (2008a) a demanda de molibdênio no milho é de  $9 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  para atingir produtividade de  $9 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Porém, a adubação molíbdica tem apresentado resposta econômica e técnica para híbridos altamente produtivos quando utilizados de  $10$  a  $20 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$  de Mo (BROCH; RANNO, 2016). Contudo, entre outros fatores, a quantidade de molibdênio disponível no solo e a época de aplicação deste elemento podem, também, influenciar nos resultados (GASPARETO et al., 2014).

De acordo com Santos (2008) quando o molibdênio é utilizado em doses inferiores à demanda do milho este pode não funcionar como catalisador e tampouco

como ativador da redutase do nitrato, causando prejuízos na assimilação de nitrogênio pela planta. Caioni (2015) constatou produtividade superior de milho quando utilizado  $30 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  de molibdênio via foliar. Porém, com a aplicação de  $90 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$  Ferreira et al. (2001) observaram elevação no teor de proteínas nos grãos, atribuindo esse resultado a participação do elemento no metabolismo do N por meio do aumento da atividade da enzima redutase do nitrato.

## 2.4 FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO

O nitrogênio representa 78% da composição do ar atmosférico onde está na forma de gás  $\text{N}_2$ . Contudo, não é prontamente disponível para as plantas (SANTOS et al., 2008). No entanto, bactérias diazotróficas podem por meio da fixação biológica de nitrogênio (FBN) disponibilizar esse nutriente para fabáceas, assim como para poáceas (MOREIRA et al., 2013a; OLIVEIRA et al., 2008).

A fixação do nitrogênio atmosférico também pode ocorrer em baixas quantidades por meio da ação de raios. Outra forma é pelo procedimento industrial denominado de Haber-Bosch que transforma nitrogênio gasoso em amônia. Porém, o processo é oneroso, uma vez que, os custos de produção são elevados para romper a tripla ligação que une os dois átomos da molécula de  $\text{N}_2$ , sendo necessárias temperatura e pressão elevadas que são obtidas por derivados de petróleo (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994). No entanto, a FBN utiliza energia metabólica derivada da fotossíntese, sendo o processo caracterizado como renovável (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A FBN, processo biológico, depende de microrganismos diazotróficos que possuem a enzima nitrogenase que é constituída por duas unidades básicas de Fe-proteína e Fe-Mo-proteína (MOREIRA et al., 2013a). Esta enzima apresenta alta sensibilidade ao oxigênio, condicionando a fixação de  $\text{N}_2$  ser em baixas concentrações de  $\text{O}_2$ . Assim, bactérias diazotróficas aeróbias desenvolveram diversos mecanismos para possibilitar a atividade da enzima (REIS; TEIXEIRA, 2016). A nitrogenase atua por meio da quebra da ligação entre os átomos de nitrogênio em condições de temperatura ambiente e pressão normal (SANTOS et al., 2008).

A FBN pode ser realizada por microrganismos de vida livre, associativos e simbióticos (MOREIRA et al., 2013b). O processo da FBN realizado por bactérias endofíticas e associativas é semelhante ao das simbióticas, uma vez que, ocorre pelo



complexo da nitrogenase. Porém, os dois primeiros grupos liberam à planta apenas uma parte do nitrogênio fixado (HUNGRIA, 2011).

As bactérias diazotróficas de vida livre colonizam a superfície das raízes, sendo exemplo *Azotobacter paspali*. As associativas podem ser endofíticas facultativas, uma vez que, habitam interna e/ou externamente o sistema radicular, incluindo algumas espécies do gênero *Azospirillum*. Além dessas, existem as obrigatórias que sobrevivem no interior da planta e compreendem, entre outras, *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum* spp. e *Azoarcus* spp. (BALDANI et al., 1997).

Na adubação nitrogenada via fertilizantes sintéticos ocorre perda considerável de N. Porém, a FBN é eficiente no aproveitamento desse elemento (ARAÚJO; CARVALHO, 2006). Esse processo disponibiliza N às plantas propiciando, também, benefícios econômicos devido à redução dos gastos com adubos nitrogenados. Além disso, contribui para o aumento da produção sem ocasionar impactos negativos aos agroecossistemas. Portanto, a prática da inoculação de sementes com bactérias fixadoras de N pode ser considerada sustentável (MOREIRA et al., 2013b).

## 2.5 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS

A rizosfera, também denominada de espaço densamente enraizado do solo, abriga microrganismos que utilizam para sobrevivência substâncias liberadas pelas raízes como aminoácidos, hormônios, vitaminas e ácidos orgânicos (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Dessa forma, alguns grupos podem estabelecer associação com vegetais pela colonização do sistema radicular, resultando em benefícios para a produção agrícola (ANDREOTE et al., 2008). Entre esses microrganismos estão as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs). Como exemplo destas destaca-se: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium* (MELO, 1998).

Entre os benefícios das RPCPs citam-se, por exemplo, a produção de reguladores do crescimento vegetal, FBN, solubilização de nutrientes e biocontrole de fitopatógenos (MENDONÇA, 2006). Neste sentido, a ação das RPCPs pode ser uma alternativa para a agricultura sustentável, uma vez que, contribui para o aumento da produção agrícola, redução de gastos com insumos e minimização de impactos ambientais (MOREIRA et al., 2013a).

A produção de sideróforos, quelantes de baixa massa molecular e que atuam no transporte de ferro, é outra contribuição das RPCPs (BENITE et al., 2002). De acordo com Moreira et al. (2013b) a formação de sideróforos reduz a disponibilidade de Fe para fitopatógenos, limitando a sobrevivência desses organismos. Fedrizzi (2006) identificou a produção de sideróforos por isolados bacterianos, principalmente dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*.

Carvalho et al. (2009) constataram que bactérias como *Bacillus cereus*, *Bacillus pumillus* e *Bacillus megaterium* promoveram o crescimento de coleótilos de trigo. De acordo com esses autores este resultado deve-se à produção de fitohormônios por essas espécies. Segundo Szilagyi-Zecchin et al. (2014) *Bacillus* sp. e *Enterobacter* sp., presentes em raízes de milho, produziram ácido indolacético (AIA), apresentaram capacidade diazotrófica e redução do crescimento de fungos. Pedrinho et al. (2010) em pesquisa sobre a atividade de microrganismos na rizosfera de milho identificaram a ocorrência dos gêneros *Bacillus*, *Burkholderia*, *Sphingomonas*, *Pantoea* e *Azospirillum* com potencial ação de RPCPs.

Os benefícios das RPCPs também foram constatados por Araújo et al. (2012) ao utilizarem isolados de *Bacillus* sp. em *Brachiaria brizantha* e observarem que todos foram antagônicos ao menos a um tipo de fungo patogênico. Além disso, verificaram que bactérias existentes nas raízes de *Brachiaria* podem promover o crescimento de plantas devido à produção de fosfatase e AIA. Segundo Hungria (2011) compostos que promovem o crescimento dos vegetais podem ser produzidos por diferentes espécies de RPCPs como, por exemplo, *Azospirillum brasilense*.

Na rizosfera há, também, as rizobactérias deletérias do crescimento das plantas (RDCPs). Esse grupo pode, em função de modificações do ambiente, predominar e prejudicar o crescimento, desenvolvimento e a produtividade das culturas. Os efeitos negativos ocorrem por meio da produção de fitotoxinas, competição por nutrientes e inibição de fungos micorrízicos (NEHL et al., 1997). Neste sentido, Song et al. (2007) observaram, por exemplo, competição por nitrogênio entre microrganismos do solo e plantas.

Segundo Mendonça (2006) há poucas rizobactérias que quando em associação com o sistema radicular das plantas apresentam potencial para interações mútuas por meio de ações benéficas ao crescimento e produção dos vegetais que incluem a produção de fitohormônios, solubilização de nutrientes e controle de organismos patogênicos. Além disso, para Martínez-Viveros et al. (2010)

há a necessidade de pesquisas para compreensão da ecologia das RPCPs, principalmente as introduzidas ao solo via inoculantes, e a interação dessas com os demais microrganismos da rizosfera.

## 2.6 *Azospirillum brasilense*

Da mesma forma que nas fabáceas a FBN também pode constituir-se em alternativa para minimizar o uso de adubos nitrogenados sintéticos em poáceas. Bactérias do gênero *Azospirillum* constituem o grupo de microrganismos que mais contribui nesse aspecto (ARAÚJO, 2008). Algumas espécies são descritas como microaerofílicas por realizarem a fixação do N<sub>2</sub> por meio de mecanismo de locomoção de células que envolvem movimentos ondulatórios rápidos para locais com baixa concentração de oxigênio, visando não comprometer a atividade da nitrogenase (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

*Azospirillum brasilense* é uma bactéria diazotrófica associativa, caracterizada morfológicamente como bastonete curvo, móvel, com 1 x 3 a 5 µm (DÖBEREINER et al., 1995). As estirpes que constitui os inoculantes biológicos comercializados para poáceas no Brasil são Ab-V5 e/ou Ab-V6 (HUNGRIA et al., 2010). Relacionado à forma de aplicação do inoculante contendo *Azospirillum brasilense* Müller et al. (2012) compararam a inoculação nas sementes e via sulco de semeadura e não verificaram diferenças entre ambas as formas. Kappes et al. (2013) aplicaram o produto microbiano via foliar e não observaram efeitos nas variáveis avaliadas.

Segundo Bertoglio Júnior et al. (2014) a quantidade de inoculante a base de *Azospirillum brasilense* aplicado no milho interfere na eficiência do processo, uma vez que, observaram resposta linear positiva de variáveis de crescimento e desenvolvimento com 0, 2, 4, 6 e 8 mL do produto para 1000 sementes. Peres et al. (2013) constataram que 400 mL.ha<sup>-1</sup> de inoculante associado a 30,9 kg.ha<sup>-1</sup> de nitrogênio em cobertura resultou em maior produtividade do milho.

Segundo Piccinin et al. (2015) a utilização de produtos com *Azospirillum brasilense* não substitui totalmente a adubação nitrogenada em milho, sendo recomendável à inoculação associada à aplicação de adubos nitrogenados sintéticos. Contudo, Müller (2013) verificou que a inoculação e doses de N apresentaram resultados independentes para variáveis de crescimento e de rendimento. Repke et

al. (2013) também não verificaram interação entre os dois fatores e nem tampouco efeito isolado do microrganismo. Por outro lado, Roesch et al. (2006) observaram que no crescimento inicial do milho a colonização por bactérias diazotróficas reduziu com o aumento da fertilização mineral de N. Lana et al. (2012) constataram redução de N foliar no milho quando aplicaram 20 kg.ha<sup>-1</sup> de N na semeadura associado a inoculação de *Azospirillum brasilense*.

Os resultados de pesquisas quanto ao uso de bactérias fixadoras de nitrogênio via inoculante em poáceas são diferenciados devido às interações com fatores bióticos e abióticos (REIS, 2007). Neste sentido, estudos realizados por Pereira et al. (2015) constataram que genótipos de milho tiveram respostas diferentes para as variáveis de crescimento e teor de nitrogênio foliar devido a associação de *Azospirillum brasilense* e fertilizantes nitrogenados. Os autores também observaram, que a utilização do inoculante nas sementes não interfere na qualidade fisiológica das mesmas representando, ainda, maior praticidade na aplicação do produto.

O incremento de variáveis relacionadas ao crescimento, desenvolvimento e produtividade do milho em função do uso de *Azospirillum brasilense* foi verificado por Braccini et al. (2012), Costa et al. (2015), Marini et al. (2015), Novakowski et al. (2011) e Quadros et al. (2014). Porém, Cunha et al. (2014), Morais et al. (2015) e Müller et al. (2016) não verificaram aumento de variáveis como a altura da planta, diâmetro do colmo e N foliar no milho em resposta a *Azospirillum brasilense*.

## 2.7 RIZÓBIOS

Espécies de bactérias pertencentes à família Rhizobiaceae são coletivamente denominadas de rizóbios (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Dentre estes, os gêneros que se destacam são *Bradyrhizobium* e *Rhizobium*. Os mesmos promovem nodulação em espécies de plantas da família Fabaceae como a soja (*Bradyrhizobium elkanii* e *Bradyrhizobium japonicum*) e feijoeiro (*Rhizobium tropici*) (CASSINI; FRANCO, 2006; HOFFMANN, 2007).

A presença de *Rhizobium tropici* nos tecidos internos do milho cultivado em sucessão ao feijoeiro foi observada por Rosenblueth e Romero (2004). Marks et al. (2013) e Marks et al. (2015) observaram que metabólitos de *Rhizobium tropici* apresentaram efeito positivo no crescimento de plantas de milho.

Embora os rizóbios propiciem a FBN em fabáceas em outras famílias podem atuar como RPCPs (HOSSAIN; MARTENSSON, 2008). Dessa forma, Tan et al. (2014) constataram que entre outros gêneros de rizobactérias *Bradyrhizobium* e *Rhizobium* promoveram o crescimento de mudas de arroz. Para os autores as contribuições ocorreram por meio da FBN, solubilização de fósforo e potássio e produção de fitohormônios, sideróforos e enzimas de hidrólise.

Segundo Osório Filho et al. (2016) a utilização de rizóbios em cultivo de espécies não pertencentes às fabáceas não visa substituir a adubação nitrogenada mas, estimular e promover o crescimento das plantas. De acordo com os autores, tais bactérias podem aumentar o aproveitamento do nitrogênio aplicado via adubos nitrogenados, garantindo maior eficiência da fertilização mineral. Dessa forma, Dartora et al. (2016a) verificaram que o uso de um isolado de *Rhizobium* sp. associado a 30 kg.ha<sup>-1</sup> de N na semeadura do milho resultou em rendimento equivalente a aplicação de 160 kg.ha<sup>-1</sup> de adubo nitrogenado. Para Bécquer et al. (2011) e Hahn et al. (2013) a inoculação de rizóbio em milho pode aumentar o crescimento das plantas, mas a magnitude desse efeito dependerá do genótipo do vegetal e do gênero do microrganismo.

## 2.8 COINOCULAÇÃO

A coinoculação consiste na aplicação simultânea de diferentes espécies de microrganismos em um mesmo vegetal, visando atuação conjunta em benefício da planta (NOGUEIRA; HUNGRIA, 2013). Araújo et al. (2010) avaliaram o uso de *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium elkanii* combinados a NPK nas culturas de feijão-caupi e leucena. Os autores verificaram que a associação de microrganismos e nutrientes aumentou as massas secas da parte aérea, raízes e nódulos, bem como o teor de clorofila e nitrogênio acumulado.

Leite e Araújo (2007) destacam que a associação de espécies de *Bacillus* ou *Pseudomonas* com *Rhizobium* pode ser promissora para a agricultura, uma vez que, aumenta a fixação biológica de nitrogênio e crescimento de plantas como as fabáceas. A eficiência da utilização combinada de microrganismos foi constatada por Lima et al. (2011) que verificaram aumento da massa seca da parte aérea e FBN em feijão-caupi em resposta a *Bacillus pumilus* e *Bradyrhizobium* sp. No feijoeiro

Yadegari et al. (2008) observaram que a coinoculação de *Pseudomonas fluorescens* e *Rhizobium* sp. aumentou a produtividade.

Veronezi et al. (2012) não verificaram aumento da matéria seca da parte aérea, massa de nódulos secos e N total da parte aérea do feijoeiro quando submetido a coinoculação de *Azospirillum brasilense* e rizóbios. Da mesma forma, Bárbaro et al. (2009) não observaram efeito da associação de *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium elkanii* e *Bradyrhizobium japonicum* na soja.

No milho Dartora et al. (2016b) verificaram que a combinação *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* aumentou o acúmulo de P foliar. Porém, Offemann et al. (2015) mediante a coinoculação destas mesmas espécies não constataram aumento da produtividade dessa poacea. Por outro lado, em milho pipoca Spolaor et al. (2016) observaram que na ausência da adubação nitrogenada a aplicação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium* sp. aumentou o rendimento de grãos.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, sendo o primeiro em área de pesquisa da Universidade Federal do Acre em Rio Branco, Acre e o segundo no Instituto Federal de Rondônia no *Campus Cacoal*.

#### 3.1 EXPERIMENTO 1

O experimento foi realizado em casa de vegetação, no período de outubro a novembro de 2015, em área de pesquisa da Universidade Federal do Acre em Rio Branco, Acre. Como planta teste utilizou-se o milho variedade AL Bandeirante. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2 \times 5$ , com 5 repetições totalizando 200 unidades experimentais as quais constituíram-se de vasos de polietileno flexível com capacidade de 7 litros, altura de 32,5 cm e área de 289 cm<sup>2</sup>. Os fatores corresponderam à ausência e presença de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio (30 kg.ha<sup>-1</sup>) e cinco níveis de molibdênio (0; 7,5; 15,0; 22,5 e 30,0 g.ha<sup>-1</sup>), sendo utilizado como fonte de N a ureia (45% de N) e de Mo o molibdato de amônio (54% de Mo).

O solo utilizado como substrato foi retirado da camada superficial (0-20 cm) de uma área em pousio no campo experimental da UFAC e antes de ser adicionado aos vasos elevou-se seu nível de fertilidade mediante adubação fosfatada com 100 mg de P na forma de superfosfato simples (18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e potássica com 100 mg de K na forma de cloreto de potássio (58% de K<sub>2</sub>O) dez dias antes da semeadura. Os atributos químicos do solo apresentados na instalação do experimento foram: pH (CaCl<sub>3</sub>) = 5,6; matéria orgânica = 32,1 g.dm<sup>-3</sup>; P = 35,9 mg.dm<sup>-3</sup>; K = 93,8 mg.dm<sup>-3</sup>; Ca = 4,15 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Mg = 1,49 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; H+Al = 1,7 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; S = 13,4 mg.dm<sup>-3</sup>; Fe = 284 mg.dm<sup>-3</sup>; Zn = 3,1 mg.dm<sup>-3</sup>; Cu = 2,1 mg.dm<sup>-3</sup>; Mn = 45,5 mg.dm<sup>-3</sup>; B = 0,27 mg.dm<sup>-3</sup>; Soma de bases = 5,88 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; CTC = 7,58 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>; Saturação por bases = 77,57%; Relação Ca/Mg = 2,79; Relação Mg/K = 6,11.

Pela análise granulométrica do solo verificou-se que este possuía 656 g.kg<sup>-1</sup> de areia, 77 g.kg<sup>-1</sup> de silte e 267 g.kg<sup>-1</sup> de argila. A densidade aparente correspondeu a 1,44 g.cm<sup>-3</sup>, a densidade de partículas foi de 2,65 g.cm<sup>-3</sup> e a porosidade total de 45,66%.

A análise química das sementes do milho AL Bandeirante indicou os seguintes resultados: N = 17,7 g.kg<sup>-1</sup>; P = 2,08 g.kg<sup>-1</sup>; K = 3,30 g.kg<sup>-1</sup>; Ca = 0,07 g.kg<sup>-1</sup>; Mg = 1,0 g.kg<sup>-1</sup>; S = 1,03 g.kg<sup>-1</sup>; Fe = 22,9 mg.kg<sup>-1</sup>; Mn = 5,5 mg.kg<sup>-1</sup>; Cu = 1,6 mg.kg<sup>-1</sup>; Zn =

25,3 mg.kg<sup>-1</sup>; Na = 22,5 mg.kg<sup>-1</sup>; B = 2,3 mg.kg<sup>-1</sup>; Al = 9,6 mg.kg<sup>-1</sup>; Mo < 0,3 mg.kg<sup>-1</sup> e Co < 0,3 mg.kg<sup>-1</sup>.

A fonte de *Azospirillum brasilense* utilizada foi inoculante turfoso contendo as estirpes AbV5 e AbV6. Quando da utilização foi estimado o número de células viáveis por grama de produto em meio de cultura seletivo sendo este composto de duas partes denominadas A e B. A parte A apresentava a seguinte composição: 5 g de ácido málico, 0,5 g de fosfato dipotássico anidro, 0,5 g de sulfato ferroso, 0,01 g de sulfato manganoso, 0,2 g sulfato de magnésio seco hidratado, 0,1 g de cloreto de sódio, 0,002 g molibdato de sódio, 0,02 g de cloreto de cálcio e 0,002 g de azul bromotimol. A parte B era composta apenas de 4 g de hidróxido de potássio. Para o preparo de 1 L de meio foram utilizados 8,1 g da parte A, 4,5 g da parte B e 20 g de ágar bacteriológico. A contagem teve resultado de  $1,1 \times 10^9$  células viáveis de *Azospirillum brasilense* por grama de inoculante.

Como fonte de *Rhizobium tropici* foi utilizado inoculante turfoso contendo as estirpes SEMIA 4077 e SEMIA 4088. Quando da utilização foi estimado o número de células viáveis por grama de produto em meio de cultura seletivo sendo este com a seguinte composição: 1 g de extrato de levedura, 10 g de manitol, 0,5 g de sulfato dipotássico anidro, 0,2 g de sulfato de magnésio seco monohidratado, 0,1 g de cloreto de sódio e 20 g de ágar bacteriológico. Para o preparo de 1 L de meio foi dissolvido 31,8 g da mistura. A contagem teve resultado de  $1,5 \times 10^9$  células viáveis de rizóbio por grama de inoculante.

Nos tratamentos definidos pela presença de *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasilense* e níveis de molibdênio efetuaram-se os procedimentos de inoculação e coinoculação das bactérias e aplicação do adubo molíbdico nas sementes do milho no momento da instalação do experimento, em período de temperatura amena para minimizar o efeito desta na sobrevivência dos microrganismos. Foram aplicados, em 100 gramas de sementes, de forma isolada e/ou combinada 0,61 g de inoculante turfoso a base de *Azospirillum brasilense*; 0,61 de inoculante turfoso a base de *Rhizobium tropici*; 0,07; 0,14; 0,21 e 0,28 g de molibdato de amônio. Estas quantidades foram estabelecidas com base nas doses de 100 g de inoculante para 60000 sementes e de 7,5; 15; 22,5 e 30 g de molibdênio por hectare, considerando aproximadamente 20 kg de sementes por hectare. Para garantir maior adesão e distribuição dos inoculantes e do molibdato de amônio as sementes foram umedecidas com solução açucarada, preparada com açúcar cristal, a 10%, conforme metodologia de Brandão Júnior e Hungria (2000), na dosagem de 0,6 mL por 100 g de sementes.



Após a aplicação dos produtos nas sementes e secagem à sombra efetuou-se imediatamente a semeadura de cinco destas por unidade experimental em profundidade padrão de 2 cm. Para os tratamentos com presença de nitrogênio adicionou-se às unidades experimentais 0,19 g de ureia sendo esta incorporada manualmente ao solo a aproximadamente 3 cm de profundidade no momento da semeadura.

No estágio fenológico V3 foi realizado o desbaste, mantendo-se apenas a planta mais vigorosa em cada unidade experimental. As irrigações foram realizadas de forma regular, visando manter a umidade do solo em torno de 70% da capacidade de campo, conforme metodologia descrita por Passos (2004). Realizou-se também o controle de plantas daninhas por meio de retirada manual.

No período de condução do experimento foram monitoradas no interior da casa de vegetação a temperatura e umidade relativa do ar por meio de datalogger. A temperatura do solo foi verificada diariamente utilizando-se termômetro tipo espeto a 14 cm de profundidade.

A avaliação do experimento foi realizada quando pelo menos 50% das plantas apresentaram-se no estágio fenológico V12, sendo consideradas as seguintes variáveis indicadoras de crescimento: altura da planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF), colmo (MSC), parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e também o nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA).

A altura da planta foi obtida por medição desta do colo até a inserção da folha bandeira, utilizando-se trena. O diâmetro basal do colmo foi verificado por meio de paquímetro manual. A parte aérea das plantas foi coletada mediante o corte na região do colo, sendo esta estratificada em folha e colmo. Em seguida, as raízes passaram por limpeza que consistiu na lavagem destas em água corrente sobre peneiras. O material coletado seguiu para secagem em estufa a 65 °C, até massa constante, obtendo-se as massas secas da folha (MSF), colmo (MSC) e raiz (MSR). O somatório da MSF e MSC resultou na massa seca da parte aérea (MSPA) e este acrescido da MSR constituiu a massa seca total (MST). A partir do material seco, após este ser triturado, foi determinado o NAPA de acordo com o método Kjeldahl, conforme descrito por Tedesco et al. (1995).

A análise estatística inicial dos resultados consistiu em verificar a presença de dados discrepantes (GRUBBS, 1969), a normalidade dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965) e a homogeneidade das variâncias (BARTLETT, 1937). As variáveis que não atenderam os pressupostos da análise de variância tiveram os dados transformados

para permitir essa possibilidade. Pelo teste F da análise de variância verificou-se a significância dos efeitos isolados e combinados dos fatores. Para as interações significativas ( $p < 0,05$ ) duplas (A x B) ou triplas (A x B x C) antes de se proceder a comparação das médias efetuou-se o desdobramento da análise de variância para avaliar as interações dos níveis de um fator dentro do outro. Para duas ou mais interações significativas envolvendo a participação dos mesmos fatores foi realizada a comparação de médias considerando a de maior ordem. No caso do molibdênio foram realizadas ainda análise de regressão como, também, de contrastes ortogonais (NOGUEIRA, 2004) para verificar o efeito da ausência deste em relação à presença, independente da dose.

### 3.2 EXPERIMENTO 2

O experimento foi realizado em casa de vegetação, no período de maio a julho de 2016, em área de pesquisa do Instituto Federal de Rondônia (IFRO), *Campus Cacoal*. Como planta teste utilizou-se o milho híbrido duplo AG 1051. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2 \times 2$ , com 5 repetições totalizando 80 unidades experimentais as quais constituíram-se de vasos de policloreto de polivinila (PVC) com capacidade de 15,7 litros, altura de 50 cm e área de  $314,16 \text{ cm}^2$ . Os fatores corresponderam à ausência e presença de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, molibdênio ( $50 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) e nitrogênio ( $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  de N), sendo utilizado como fonte de Mo o molibdato de amônio (54% de Mo) e de N a ureia (45% de N).

O solo utilizado como substrato foi retirado da camada superficial (0-20 cm) de uma área em pousio no campo experimental do IFRO e antes de ser adicionado aos vasos elevou-se seu nível de fertilidade mediante adubação fosfatada com 100 mg de P na forma de superfosfato simples (18% de  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) e potássica com 100 mg de K na forma de cloreto de potássio (58% de  $\text{K}_2\text{O}$ ) quinze dias antes da semeadura. Os atributos químicos do solo apresentados na instalação do experimento foram: pH ( $\text{CaCl}_2$ ) = 5,5; matéria orgânica =  $35,8 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; P =  $15,1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; K =  $96,4 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; Ca =  $3,30 \text{ cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$ ; Mg =  $1,16 \text{ cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$ ; H+Al =  $3,50 \text{ cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$ ; S =  $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; Fe =  $246 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; Zn =  $2,8 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; Cu =  $1,9 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; Mn =  $94,6 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; B =  $0,37 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; Soma de bases =  $4,71 \text{ cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$ ; CTC =  $8,21 \text{ cmol}_c \cdot \text{dm}^{-3}$ ; Saturação por bases = 57,37%; Relação Ca/Mg = 2,84; Relação Mg/K = 4,63.

Pela análise granulométrica do solo verificou-se que este possuía 523 g.kg<sup>-1</sup> de areia, 117 g.kg<sup>-1</sup> de silte e 360 g.kg<sup>-1</sup> de argila. A densidade aparente correspondeu a 1,51 g.cm<sup>-3</sup>, a densidade de partículas foi de 2,41 g cm<sup>-3</sup> e porosidade total de 37,34%.

A análise química das sementes do milho AG 1051 apresentou os seguintes resultados: N = 17,02 g.kg<sup>-1</sup>; P = 5,53 g.kg<sup>-1</sup>; K = 8,31 g.kg<sup>-1</sup>; Ca = 0,13 g.kg<sup>-1</sup>; Mg = 1,70 g.kg<sup>-1</sup>; S = 1,38 g.kg<sup>-1</sup>; Fe = 34,4 mg.kg<sup>-1</sup>; Mn = 8,2 mg.kg<sup>-1</sup>; Cu = 2,9 mg.kg<sup>-1</sup>; Zn = 41,9 mg.kg<sup>-1</sup>; Na = 60,6 mg.kg<sup>-1</sup>; B = 2,7 mg.kg<sup>-1</sup>; Al = 8,3 mg.kg<sup>-1</sup>; Mo < 0,3 mg.kg<sup>-1</sup> e Co < 0,3 mg.kg<sup>-1</sup>.

As fontes dos microrganismos (*Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*) e dos nutrientes (Mo e N) bem como a composição e preparo dos meios de cultura foram similares a do experimento 1. As contagens dos produtos biológicos tiveram resultados de 1,3 x 10<sup>9</sup> células viáveis de *Azospirillum brasilense* por grama de inoculante e 1,8 x 10<sup>9</sup> células viáveis de rizóbio por grama de inoculante.

Nos tratamentos definidos pela presença de *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasilense* e molibdênio efetuaram-se os procedimentos de inoculação e coinoculação das bactérias e aplicação do adubo molíbdico nas sementes do milho no momento da instalação do experimento, em período de temperatura amena para minimizar o efeito desta na sobrevivência dos microrganismos. Foram aplicados, em 100 gramas de sementes, de forma isolada e/ou combinada 0,44 g inoculante turfoso a base de *Azospirillum brasilense*; 0,44 g de inoculante turfoso a base de *Rhizobium tropici* e 0,46 g de molibdato de amônio. Estas quantidades foram estabelecidas com base nas doses de 100 g de inoculante para 60000 sementes e de 50 g de molibdênio por hectare, considerando aproximadamente 20 kg de sementes por hectare. Para garantir maior adesão e distribuição dos inoculantes e do molibdato de amônio as sementes foram umedecidas com solução açucarada, preparada com açúcar cristal, a 10%, conforme metodologia de Brandão Júnior e Hungria (2000), na dosagem de 0,6 mL por 100 g de sementes.

Após a aplicação dos produtos nas sementes e secagem à sombra efetuou-se imediatamente a semeadura de cinco destas por unidade experimental em profundidade padrão de 2 cm. Para os tratamentos com presença de adubação nitrogenada adicionou-se às unidades experimentais 0,21 g de ureia sendo esta incorporada manualmente ao solo a aproximadamente 3 cm de profundidade no momento da semeadura.

Os procedimentos quanto ao desbaste, irrigação e controle de plantas daninhas foram similares a do experimento 1. O monitoramento no interior da casa de vegetação da temperatura do ar e do solo, bem como da umidade relativa do ar, também, seguiu a mesma metodologia do experimento anterior.

A avaliação do experimento foi realizada quando pelo menos 50% das plantas apresentaram-se no estágio fenológico VT (pendoamento), sendo consideradas as seguintes variáveis indicadoras de crescimento: altura da planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF), colmo (MSC), pendão (MSP), da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e também o nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA).

A altura da planta foi obtida por medição destas do colo até a inserção da folha bandeira, utilizando-se trena. O diâmetro basal do colmo foi verificado por meio de paquímetro manual. A parte aérea das plantas foi coletada mediante o corte na região do colo, sendo estratificadas em folha, colmo e pendão. Em seguida, as raízes passaram por limpeza que consistiu na lavagem em água corrente sobre peneiras. O material coletado seguiu para secagem em estufa a 65 °C, até massa constante, obtendo-se as massas secas da folha (MSF), colmo (MSC), pendão (MSP) e raiz (MSR). O somatório da MSF, MSC e MSP resultou na massa seca da parte aérea (MSPA) e este acrescido da MSR constituiu a massa seca total (MST). A partir do material seco, após este ser triturado, foi determinado o NAPA por digestão de acordo com o método Kjeldahl, conforme descrito por Tedesco et al. (1995).

A análise estatística inicial dos resultados consistiu em verificar a presença de dados discrepantes (GRUBBS, 1969), a normalidade dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965) e a homogeneidade das variâncias (BARTLETT, 1937). Pelo teste F da análise de variância verificou-se a significância dos efeitos isolados e combinados dos fatores. Para as interações significativas ( $p < 0,05$ ) duplas (A x B) ou triplas (A x B x C) antes de se proceder a comparação das médias efetuou-se o desdobramento da análise de variância para avaliar as interações dos níveis de um fator dentro do outro. Para duas ou mais interações significativas envolvendo a participação dos mesmos fatores foi realizada a comparação de médias considerando a de maior ordem.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*, bem como o molibdênio e nitrogênio apresentaram efeitos distintos nas variáveis de crescimento do milho variedade AL Bandeirante (experimento 1) e do híbrido AG 1051 (experimento 2).

As condições ambientais, temperatura do ar e do solo, verificadas no decorrer dos experimentos não foram, a princípio, prejudiciais para a sobrevivência das bactérias *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*, uma vez que, as médias de temperatura do ar e do solo obtidas no experimento 1 corresponderam a 30 °C e 35 °C e as do experimento 2 a 27 °C e 34 °C, considerando que para *Azospirillum brasilense* a temperatura ótima de crescimento é de 37 °C (ECKERT et al., 2001) e *Rhizobium tropici* pode sobreviver a temperatura como 40 °C (MARTÍNEZ-ROMERO et al., 1991). Portanto, a sobrevivência dos microrganismos não foi comprometida devido às temperaturas médias, uma vez que, estas não foram extremas.

### 4.1 EXPERIMENTO 1

Neste experimento verificou-se interação dupla ( $p < 0,05$ ) entre *Azospirillum brasilense* e nitrogênio e deste com *Rhizobium tropici* para as massas secas do colmo, raiz e total e nitrogênio acumulado na parte aérea (Tabelas 1 e 2).

A inoculação de *Azospirillum brasilense* nas sementes na ausência do nitrogênio contribuiu para incrementar o crescimento das plantas de milho, sendo verificado acréscimo nas massas secas do colmo, raiz e total e nitrogênio acumulado na parte aérea. Também observou-se aumento dessas variáveis na ausência de *Azospirillum brasilense* e presença de N (Tabela 1).

Os resultados evidenciam a importância da inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* quando não se efetua a adubação nitrogenada sendo, neste caso, possível aumentar o crescimento total das plantas em 33% e o nitrogênio acumulado na parte aérea destas em 30% (Tabela 1). Estes efeitos podem estar relacionados à ação dessa espécie de bactéria diazotrófica em disponibilizar parte do nitrogênio fixado ao milho. Além disso, há provável efeito desta como RPCPs por meio do acréscimo das massas secas da raiz, colmo e total, como também, do nitrogênio acumulado.

Tabela 1 - Massas secas do colmo (MSC), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de plantas de milho AL Bandeirante em função da interação entre *Azospirillum brasilense* e nitrogênio

Variáveis	<i>Azospirillum brasilense</i>	Nitrogênio		CV (%)
		Ausência	Presença	
MSC (g) <sup>1</sup>	Ausência	7,95 Bb	11,84 Aa	13,43
	Presença	11,42 Ab	12,97 Aa	
MSR (g)	Ausência	18,81 Bb	25,87 Aa	25,75
	Presença	25,58 Aa	27,66 Aa	
MST (g)	Ausência	37,75 Bb	52,02 Aa	17,09
	Presença	50,16 Ab	55,28 Aa	
NAPA (mg)	Ausência	199,31Bb	281,49 Aa	22,68
	Presença	258,27 Aa	276,00 Aa	

Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem ( $p>0,05$ ) entre si pelo teste F.

Os pressupostos, a análise de variância principal e o desdobramento desta podem ser verificados nos apêndices A, C, D, K, N, P e R.

<sup>1</sup>Resultados originais cujos dados foram transformados em  $\sqrt{x}$  para a análise de variância por não atenderem a homogeneidade de variância.

O aumento das massas secas da raiz, colmo e total e nitrogênio acumulado devido à presença de *Azospirillum brasilense* na ausência do nitrogênio está provavelmente relacionado à solubilização de nutrientes e produção de fitohormônios por esta espécie microbiana, tais como, auxinas, giberelinas e citocininas, o que evidencia o efeito desta rizobactéria como promotora do crescimento de plantas (Tabela 1). Pedrinho et al. (2010) observaram, em pesquisa sobre a atividade de microrganismos na rizosfera de milho, a solubilização de fosfato e produção de AIA por bactérias do gênero *Azospirillum*. O incremento de variáveis relacionadas ao crescimento do milho em função do uso de *Azospirillum brasilense* foi verificado por Costa et al. (2015) e Hungria et al. (2010). Contudo, Müller et al. (2016) não constataram efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* no teor de N foliar.

Na presença de nitrogênio *Azospirillum brasilense* não teve efeito para as massas secas do colmo, raiz e total e nem tampouco no nitrogênio acumulado na parte aérea do milho (Tabela 1). Este resultado difere do observado em algumas pesquisas (LANA et al., 2012; ROESCH et al., 2006) que constataram antagonismo entre bactérias diazotróficas e fertilização mineral com N. Porém, Dartora et al. (2013) não verificaram interferência da adubação nitrogenada sobre bactérias diazotróficas.

Outra interação significativa verificada refere-se a nitrogênio e *Rhizobium tropici*. A ausência de N e a presença de *Rhizobium tropici* reduziu massa seca do colmo e

total. Porém, o efeito combinado do nitrogênio com *Rhizobium tropici* proporcionou aumento das massas secas do colmo, raiz e total e do nitrogênio acumulado na parte aérea. Embora em espécies nodulíferas da família Fabaceae, como soja e feijoeiro, a adubação nitrogenada normalmente limite a atividade diazotrófica dos rizóbios, no milho, avaliado neste experimento, ao contrário, verificou-se efeito sinérgico do *Rhizobium tropici* e o nitrogênio, possibilitando aumento de 34% no crescimento total das plantas e de 37% no teor de nitrogênio acumulado na parte aérea destas (Tabela 2).

Tabela 2 - Massas secas do colmo (MSC), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de plantas de milho AL Bandeirante em função da interação entre *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Variáveis	<i>Rhizobium tropici</i>	Nitrogênio		CV (%)
		Ausência	Presença	
MSC (g) <sup>1</sup>	Ausência	10,22 Ab	12,02 Aa	13,43
	Presença	9,14 Bb	12,79 Aa	
MSR (g)	Ausência	23,46 Aa	25,65 Aa	25,75
	Presença	20,94 Ab	27,88 Aa	
MST (g)	Ausência	46,35 Ab	51,45 Ba	17,09
	Presença	41,56 Bb	55,85 Aa	
NAPA (mg)	Ausência	239,76 Aa	260,01 Ba	22,68
	Presença	217,83 Ab	297,48 Aa	

Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Os pressupostos, a análise de variância principal e o desdobramento desta podem ser verificados nos apêndices A, C, D, L, O, Q e S.

<sup>1</sup>Resultados originais cujos dados foram transformados em  $\sqrt{x}$  para a análise de variância por não atenderem a homogeneidade de variância.

Os resultados positivos do nitrogênio associado ao *Rhizobium tropici* podem estar relacionados ao efeito desse microrganismo como RPCPs. Segundo Osório Filho et al. (2016) a utilização de rizóbios em poáceas não visa substituir a adubação nitrogenada, mas sim promover o crescimento das plantas. Dartora et al. (2016a) verificaram que o uso de um isolado de *Rhizobium* sp. associado a 30 kg.ha<sup>-1</sup> de N na semeadura do milho resultou em rendimento equivalente a aplicação de 160 kg.ha<sup>-1</sup> de adubo nitrogenado.

Quando cultivado milho em sucessão ao feijoeiro Rosenblueth e Romero (2004) observaram a presença de *Rhizobium tropici* nos tecidos internos dessa poácea. Porém, nos experimentos em que foi realizada a inoculação de sementes de milho com essa bactéria os autores não constataram redução de acetileno. Este resultado

indica que a atuação desse microrganismo para essa espécie vegetal não é pela atividade diazotrófica e sim pela ação como RPCPs.

Houve interação tripla ( $p < 0,05$ ) entre *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio para altura, diâmetro basal do colmo e massas secas da folha e da parte aérea de plantas de milho. A inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* na presença ou ausência de nitrogênio, combinado ou não com *Rhizobium tropici*, propiciou aumento da altura, massas secas da folha e parte aérea. A associação de *Azospirillum brasilense* com nitrogênio ou *Rhizobium tropici* também aumentou o diâmetro do colmo. Entretanto, a combinação dos três fatores resultou em menor altura da planta não interferindo, porém, nas demais variáveis (Tabela 3).

Tabela 3 - Altura (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF) e parte aérea (MSPA) de plantas de milho AL Bandeirante em função da interação entre *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Variáveis	Rizobactérias		Nitrogênio		CV (%)
	<i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Rhizobium tropici</i>	Ausência	Presença	
AP (cm)	Ausência	Ausência	49,21 Bb <u>A</u>	53,35 Ba <u>B</u>	10,85
	Presença	Ausência	55,73 Aa <u>a</u>	57,22 Aa <u>a</u>	
	Ausência	Presença	44,68 Bb <u>B</u>	59,97 Aa <u>A</u>	
	Presença	Presença	55,40 Aa <u>a</u>	56,08 Ba <u>a</u>	
DBC (cm)	Ausência	Ausência	1,20 Aa <u>A</u>	1,20 Ba <u>A</u>	14,71
	Presença	Ausência	1,26 Aa <u>a</u>	1,30 Aa <u>a</u>	
	Ausência	Presença	1,09 Bb <u>B</u>	1,30 Aa <u>A</u>	
	Presença	Presença	1,21 Aa <u>a</u>	1,26 Aa <u>a</u>	
MSF (g)	Ausência	Ausência	11,96 Bb <u>A</u>	13,26 Ba <u>B</u>	12,42
	Presença	Ausência	13,37 Ab <u>a</u>	14,30 Aa <u>a</u>	
	Ausência	Presença	10,02 Bb <u>B</u>	15,37 Aa <u>A</u>	
	Presença	Presença	12,93 Ab <u>a</u>	14,98 Aa <u>a</u>	
MSPA (g)	Ausência	Ausência	19,91 Bb <u>A</u>	23,97 Ba <u>B</u>	17,36
	Presença	Ausência	25,47 Aa <u>a</u>	27,63 Aa <u>a</u>	
	Ausência	Presença	17,56 Bb <u>B</u>	28,26 Aa <u>A</u>	
	Presença	Presença	23,68 Ab <u>a</u>	27,59 Aa <u>a</u>	

Para uma mesma variável, médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, minúscula na linha, maiúscula sublinhada na coluna para primeira e terceira médias e minúscula sublinhada na coluna para segunda e quarta médias, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Os pressupostos, a análise de variância principal e o desdobramento desta podem ser verificados nos apêndices A, C, D, H, I, J e M.



Marini et al. (2015) e Quadros et al. (2014) também observaram que *Azospirillum brasilense* aumentou a massa seca da parte aérea de plantas de milho. Do mesmo modo, Braccini et al. (2012) constataram aumento de altura e matéria seca de plantas de milho devido à inoculação de sementes com esse microrganismo. Porém, em algumas pesquisas (CUNHA et al., 2014; MORAIS et al., 2015) não foram verificados aumentos em altura de plantas e diâmetro do colmo quando se realizou a inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense*.

A interação benéfica verificada entre a associação de *Azospirillum brasilense* e nitrogênio na ausência do *Rhizobium tropici* que resultou no aumento da altura, diâmetro basal do colmo e massas secas da folha e parte aérea pode ser atribuído à disponibilização para a planta de parte do nitrogênio fixado pela bactéria e/ou a potencialização do efeito do adubo nitrogenado (Tabela 3). Esta situação concorda com Piccinin et al. (2015), pois, segundo estes autores apenas parte do nitrogênio fixado por *Azospirillum brasilense* é disponibilizada para a planta. Dessa forma, se a demanda por este elemento pela espécie vegetal for superior à quantidade disponibilizada pela bactéria a inoculação não pode exclusivamente atender a necessidade de N. Como não é possível a certeza de que o microrganismo está efetivamente disponibilizando a planta à quantidade necessária de N para atender a demanda desta é desejável e recomendável o uso combinado de *Azospirillum brasilense* nas sementes e adubação nitrogenada no solo como forma de garantir a disponibilidade desse elemento para a planta. Outra situação que permite essa recomendação é o fato do adubo nitrogenado não limitar a sobrevivência e atividade do *Azospirillum brasilense* ao contrário do que se verifica em fabáceas como soja e feijoeiro onde a adubação nitrogenada normalmente causa prejuízo a atividade dos rizóbios nativos e/ou introduzidos por inoculação.

A coinoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* na ausência de nitrogênio aumentou a altura, diâmetro basal do colmo e massas secas da folha e da parte aérea, indicando ter ocorrido sinergismo entre estas espécies microbianas em benefício do crescimento das plantas. Em contrapartida, quando se efetuou a adubação nitrogenada, a coinoculação destas rizobactérias causou redução da altura da planta e não interferiu no diâmetro basal do colmo e massas secas da folha e da parte aérea. Estes resultados evidenciam que quando as sementes são coinoculadas e não é efetuada a adubação nitrogenada a altura, diâmetro basal do colmo e massas secas da folha e parte aérea podem ser aumentadas em 24%, 11%, 29% e 35%, respectivamente (Tabela 3). Resultados

positivos de incremento em altura do milho, foram verificados por Mazzuchelli et al. (2014) pela utilização simultânea de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*. Dartora et al. (2013) constataram aumento do diâmetro basal do colmo e massa seca da parte aérea do milho em resposta a associação de *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*.

Marks et al. (2013) e Marks et al. (2015) realizaram pesquisa sobre a inoculação de *Azospirillum brasilense* e metabólitos de *Rhizobium tropici* em milho e constataram aumento da massa seca da parte aérea, rendimento de grãos e acúmulo de N. Os autores atribuíram estes resultados a metabólitos que são produzidos por rizóbios e atuam na promoção do crescimento de plantas.

Houve redução da altura, diâmetro basal do colmo e massas secas da folha e da parte aérea de plantas de milho na presença de *Rhizobium tropici* e ausência de *Azospirillum brasilense* e nitrogênio. Entretanto, na ausência de *Azospirillum brasilense* e presença do nitrogênio, *Rhizobium tropici* propiciou aumento da altura e massas secas da folha e da parte aérea (Tabela 3).

O sinergismo entre a adubação nitrogenada e *Rhizobium tropici* evidencia a importância do nitrogênio como potencializador da atividade desta espécie microbiana, sendo a mesma refletida no crescimento das plantas. Apesar dos rizóbios serem recomendados para fixação biológica de nitrogênio em fabáceas nodulíferas, os mesmos podem atuar como RPCPs em outras espécies vegetais, incluindo poáceas como o milho. Tan et al. (2014) observaram maior crescimento de arroz por meio da ação de diferentes espécies de rizobactérias, incluindo as pertencentes ao gênero *Rhizobium*.

A adubação nitrogenada na ausência de *Azospirillum brasilense* e presença de *Rhizobium tropici* resultou em aumento da altura da planta (34%), diâmetro basal do colmo (19%) e massas secas da folha (53%) e da parte aérea (61%). Porém, quando as sementes não foram inoculadas o nitrogênio aumentou em 8% a altura das plantas, 11% a massa seca da folha e 20% a massa seca da parte aérea e não interferiu no diâmetro basal do colmo. Além disso, o N não interferiu no aumento da altura da planta, diâmetro do colmo e massa seca da parte aérea quando na presença de *Azospirillum brasilense* e ausência de *Rhizobium tropici* (Tabela 3). Estes resultados indicam que o uso de adubo nitrogenado na semeadura combinado com a inoculação de *Rhizobium tropici* nas sementes de milho é mais eficiente do que o fertilizante nitrogenado aplicado ao solo isoladamente.

Os efeitos do *Rhizobium tropici* associado à adubação nitrogenada indicam a ação desse microrganismo como RPCPs resultando, portanto, na maior disponibilização

de N a planta como também de outros nutrientes. Segundo Bécquer et al. (2011) e Hahn et al. (2013) a inoculação do milho com rizóbios pode aumentar o crescimento de plantas, sendo, porém, esse efeito dependente do genótipo vegetal.

Considerando o efeito positivo por meio do aumento na altura de plantas, diâmetro basal do colmo, massas secas da folha e parte aérea do milho devido à inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* na ausência de *Rhizobium tropici* e presença de N e também quando nestas aplica-se o *Rhizobium tropici* na ausência de *Azospirillum brasilense* e presença de N (Tabela 3) é possível perceber, para ambas as combinações, que o efeito do adubo nitrogenado foi potencializado pela atividade destas rizobactérias para as variáveis de crescimento citadas.

Não foi verificado efeito ( $p > 0,05$ ) das doses de molibdênio aplicadas nas sementes para as variáveis avaliadas (APÊNDICES C e D), nem tampouco, da ausência em relação à presença deste micronutriente avaliada por contrastes ortogonais (APÊNDICES V e W). Estes resultados indicam que, provavelmente, as quantidades deste elemento disponíveis no solo e/ou nas sementes foram suficientes para atender a demanda das plantas em relação a este.

De acordo com Weir e Hudson (1966) no milho níveis de molibdênio na semente acima de  $0,08 \text{ mg.kg}^{-1}$  não provocam sintomas de deficiência. Neste experimento, o uso de  $30 \text{ g.ha}^{-1}$  de molibdênio, a maior dose utilizada, possibilitou a emergência de 88% de plântulas, considerando o total de sementes que foram semeadas para este tratamento. Além disso, não foi observado qualquer efeito visual de fitotoxidez de Mo nas plantas. Este resultado é diferente do constatado por Pereira et al. (2012), uma vez que, os autores avaliando doses de Mo de até  $202,5 \text{ g.ha}^{-1}$  verificaram que o híbrido de milho que suportou maior nível de Mo aplicado nas sementes sem reduzir a germinação abaixo de 85% tolerou  $14,9 \text{ g.ha}^{-1}$ .

## 4.2 EXPERIMENTO 2

Neste experimento verificou-se efeito isolado do nitrogênio para a altura, massas secas do colmo, parte aérea, raiz e total. Estas variáveis aumentaram devido à aplicação do adubo nitrogenado na semeadura do milho (Tabela 4). Estes resultados concordam com os observados por Repke et al. (2013) que observaram efeito isolado da fertilização com N na promoção do crescimento do milho quando este foi associado com *Azospirillum brasilense*.

Tabela 4 - Efeito do nitrogênio na altura (AP), massas secas do colmo (MSC), parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) de plantas de milho AG 1051

Nitrogênio	AP (m)	MSC (g)	MSPA (g)	MSR (g)	MST (g)
Ausência	1,77 b	67,38 b	109,80 b	64,19 b	173,99 b
Presença	1,83 a	70,97 a	114,09 a	70,04 a	184,12 a
CV (%)	7,64	8,79	6,65	17,94	7,40

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F. Os pressupostos e a análise de variância podem ser verificados nos apêndices B, E, F e G.

O crescimento do milho aumentou em resposta a aplicação de nitrogênio mineral na semeadura (Tabela 4). De acordo com França et al. (2011) é essencial à disponibilidade de nitrogênio no início do desenvolvimento do milho, uma vez que, a absorção desse nutriente é ascendente a partir da emergência. A demanda de nitrogênio para o crescimento do milho também foi verificada por Carvalho et al. (2013) e Moraes et al. (2015). Os autores verificaram aumento em altura e massas secas do colmo, parte aérea e total das plantas em resposta a aplicação de adubo nitrogenado.

Verificou-se também efeito isolado do molibdênio para a altura do milho (APÊNDICE E), considerando que houve redução ( $p < 0,05$ ) dessa variável na presença (1,77 m) do molibdênio quando comparada a ausência (1,83 m) deste micronutriente. Contudo, este resultado difere dos observados por Teixeira (2006) que verificou acréscimo na altura da planta de milho em função de níveis de molibdênio.

Embora tenha ocorrido redução da altura de plantas esta situação pode não significar necessariamente efeito prejudicial, uma vez que, o melhoramento dessa espécie se busca plantas de menor altura, visando melhorar aspectos relacionados a diminuição do espaçamento entre plantas com o objetivo de aumentar a população destas por unidade de área. Além disso, neste experimento a quantidade de molibdênio disponível no solo, bem como o teor deste nas sementes podem ter sido suficientes para atender a demanda por este elemento sem necessidade de suplementação.

Foi constatado efeito isolado da inoculação de *Azospirillum brasilense* para a massa seca da folha do milho (APÊNDICE E), sendo observado que houve aumento ( $p < 0,05$ ) da variável na presença (36,63 g) da espécie microbiana e redução na ausência (35,30 g) desta. Porém, Marini (2012) e Repke et al. (2013) não constataram efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* para a massa seca da folha.

Houve interação dupla ( $p < 0,05$ ) entre *Azospirillum brasilense* e nitrogênio para o NAPA. A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* na

ausência de nitrogênio e a aplicação de nitrogênio mineral na ausência desta rizobactéria não teve efeito no acúmulo de N. Contudo, quando esta espécie microbiana foi combinada com o nitrogênio aumentou em 16% a quantidade de N acumulado (Tabela 5). Marini et al. (2015) também não observaram aumento do acúmulo de N em plantas de milho em resposta a *Azospirillum brasilense*. Porém, os autores verificaram que a aplicação de níveis de N via fertilizantes nitrogenados aumentou o teor desse nutriente na planta.

Tabela 5 - Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de plantas de milho AG 1051 em função da interação entre *Azospirillum brasilense* e nitrogênio

Variável	<i>Azospirillum brasilense</i>	Nitrogênio		CV (%)
		Ausência	Presença	
NAPA (mg)	Ausência	874,59 Aa	832,12 Ba	19,35
	Presença	834,09 Ab	967,27 Aa	

Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas na coluna e minúscula na linha, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Os pressupostos, a análise de variância principal e o desdobramento desta podem ser verificados nos apêndices B, G e T.

Os resultados verificados, quanto à interação positiva de *Azospirillum brasilense* e nitrogênio (Tabela 5), sugerem sinergismo entre estes fatores, provavelmente, em função desta espécie diazotrófica apresentar atividade como RPCPs, podendo ter potencializado à eficiência da adubação nitrogenada. Araújo et al. (2015) verificaram interação entre a inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* e a aplicação de adubo nitrogenado com efeito positivo no acúmulo de N foliar e em variáveis de crescimento e rendimento.

Houve interação tripla ( $p < 0,05$ ) entre *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e molibdênio para nitrogênio acumulado na parte aérea do milho AG 1051. Dessa forma, *Azospirillum brasilense* na presença do molibdênio e ausência de *Rhizobium tropici* aumentou em 63% o acúmulo de nitrogênio. Contudo, a coinoculação dos microrganismos e presença de molibdênio reduziu a quantidade do nitrogênio total em 16% (Tabela 6). A interação benéfica do *Azospirillum brasilense* e molibdênio no milho, neste caso, pode ter ocorrido em função da contribuição desse micronutriente no processo da FBN e assimilação do N disponibilizado por este processo biológico, resultando no acúmulo desse nutriente na planta. Ganapathy e Savalgi (2006) realizaram pesquisa utilizando *Azospirillum brasilense* e os micronutrientes Zn, Fe e

Mo em milho e constataram que essa associação aumentou o crescimento da raiz e a absorção de nutrientes.

Tabela 6 - Nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) de plantas de milho AG 1051 em função da interação entre *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e molibdênio

Variável	Rizobactérias		Molibdênio		CV (%)
	<i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Rhizobium tropici</i>	Ausência	Presença	
NAPA (mg)	Ausência	Ausência	892,18 AaA	621,99 BbB	19,35
	Presença	Ausência	927,77 Aaa	1013,60 Aaa	
	Ausência	Presença	902,72 AaA	996,54 AaA	
	Presença	Presença	826,46 Aaa	834,88 Bab	

Para uma mesma variável, médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna, minúscula na linha, maiúscula sublinhada na coluna para primeira e terceira médias e minúscula sublinhada na coluna para segunda e quarta médias, não diferem ( $p > 0,05$ ) entre si pelo teste F.

Os pressupostos, a análise de variância principal e o desdobramento desta podem ser verificados nos apêndices B, G e U.

A coinoculação combinada com molibdênio reduziu o nitrogênio acumulado na parte aérea do milho. Portanto, a aplicação simultânea de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* não foi benéfica para o acúmulo de N. Esta situação pode ter ocorrido em função da competição entre as espécies microbianas por recursos em comum. Além disso, quando não foi realizada a adubação molíbdica a ausência ou presença de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* não teve efeito no N acumulado. Este resultado evidencia que estas rizobactérias apresentam interação com o molibdênio.

Segundo Ganapathy e Savalgi (2006) a aplicação de Zn, Fe e Mo associada à inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* pode contribuir para o crescimento populacional do microrganismo com consequente aumento da colonização na rizosfera. Portanto, no presente trabalho, o molibdênio pode ter estimulado o crescimento das duas espécies microbianas, resultando em competição entre essas com consequente redução da absorção e acúmulo de N pela planta.

A associação de *Rhizobium tropici* e molibdênio na ausência de *Azospirillum brasilense* aumentou o nitrogênio acumulado na parte aérea em 60%. Porém, a coinoculação destas rizobactérias combinadas com molibdênio reduziu o acúmulo de N em 18% (Tabela 6).

Os resultados do presente trabalho indicam que *Rhizobium tropici* potencializou o efeito do molibdênio, resultando em aumento do teor de N acumulado. Esta rizobactéria por meio de mecanismos de promoção do crescimento da planta como, por exemplo, síntese de fitohormônios pode ter estimulado a absorção de N. Dessa forma, em função do molibdênio estar relacionado ao metabolismo do nitrogênio este micronutriente apresentou sinergismo com *Rhizobium tropici* aumentando a assimilação de N pela planta. Porém, quando associada esta espécie microbiana com *Azospirillum brasilense* e molibdênio o N acumulado reduziu o que pode ocorrer em razão da interação antagônica entre os microrganismos. Essa situação possivelmente é derivada da competição por recursos necessários a sobrevivência dos organismos envolvidos incluindo as bactérias como, também, a planta na disputa por recursos essenciais.

Guimarães et al. (2007) estudaram o molibdênio combinado com inoculante a base de *Herbaspirillum seropedicae* e *Burkholderia* sp. em duas cultivares de arroz. Os autores verificaram que a adição do micronutriente resultou em aumento da massa seca das plantas. Porém, destacam que houve especificidade do microrganismo em função da fonte e nível de molibdênio. Dessa forma, se verifica que o molibdato de amônio utilizado, no presente experimento, apresentou interação positiva com *Azospirillum brasilense*, assim como com *Rhizobium tropici* para o N acumulado no milho (Tabela 6).

O molibdênio na ausência de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* resultou na redução do N acumulado na parte aérea do milho em 30%. Este micronutriente na dose utilizada neste experimento,  $50 \text{ g.ha}^{-1}$ , teve efeito negativo no acúmulo de N quando aplicado na ausência dos microrganismos. Contudo, o Mo combinado com a inoculação ou coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* não interferiu no acúmulo de N (Tabela 6).

O molibdênio na ausência das espécies microbianas pode ter reduzido à atividade da enzima redutase do nitrato, limitando a absorção de nitrogênio pela planta. Além disso, na presença de uma ou de ambas rizobactérias o molibdênio pode não ter potencializado incrementos na atividade das enzimas nitrogenase e redutase do nitrato, o que sugere que este elemento não atuou na metabolização do nitrogênio. Contudo, Silva (2016) verificou sinergismo entre bactérias diazotróficas e molibdênio na cana-de-açúcar, sendo que para essa espécie de poácea o micronutriente aumentou a FBN e incrementou o N acumulado.

Não houve efeito ( $p > 0,05$ ) isolado ou combinado dos fatores considerados no experimento para o diâmetro basal do colmo e massa seca do pendão (APÊNDICES E e F). Estas variáveis são determinadas por características genóticas que podem não ter apresentado interação com os fatores em estudo. Quanto ao nitrogênio, por exemplo, este nutriente está relacionado, principalmente, ao crescimento e desenvolvimento de estruturas vegetativas das plantas com posterior realocação para órgãos reprodutivos, principalmente para as espigas. Dessa forma, devido à massa seca do pendão ser a inflorescência masculina do milho o nitrogênio não teve efeito nesta. Em relação ao diâmetro do colmo esta variável pode ter tido o crescimento estabilizado, uma vez que, a partir do pendoamento a demanda de fotoassimilados é para o enchimento de grãos. Cunha et al. (2014) também não observaram efeito da inoculação do milho com *Azospirillum brasilense* no diâmetro do colmo. Por outro lado, Kappes et al. (2013) verificaram aumento dessa variável até  $54 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  de N que foi a dose máxima utilizada por estes autores.



## 5 CONCLUSÕES

*Azospirillum brasilense*, na ausência de adubo nitrogenado, resulta em maior crescimento das plantas e acúmulo de nitrogênio no milho variedade AL Bandeirante.

*Rhizobium tropici* potencializa o efeito da adubação nitrogenada no milho variedade AL Bandeirante.

A coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici*, na ausência de adubo nitrogenado, aumenta o crescimento do milho variedade AL Bandeirante.

A adubação molíbdica até 30 g.ha<sup>-1</sup> isolada ou combinada com *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio, não interfere no crescimento do milho variedade AL Bandeirante.

A adubação nitrogenada de 30 kg.ha<sup>-1</sup> de N na semeadura aumenta o crescimento do milho AG 1051.

A adubação molíbdica, isoladamente, reduz a altura do milho AG 1051.

*Azospirillum brasilense* inoculado nas sementes resulta em aumento foliar do milho AG 1051.

A inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense* potencializa o efeito da adubação nitrogenada no acúmulo de nitrogênio na parte aérea das plantas do milho AG 1051.

*Azospirillum brasilense* ou *Rhizobium tropici* combinados com a adubação molíbdica são eficientes em aumentar o acúmulo de nitrogênio na parte aérea do milho AG 1051.

A coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* combinada com a adubação molíbdica reduz a quantidade de N acumulado na parte aérea das plantas do milho AG 1051.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados positivos de *Azospirillum brasilense* no crescimento do milho evidenciam os efeitos benéficos desta rizobactéria na ausência de nitrogênio ou associada a este. Além disso, a inoculação das sementes de milho com *Rhizobium tropici* e a aplicação de fertilizante nitrogenado potencializou o crescimento do milho o que sugere outra possibilidade de uso de RPCPs no cultivo desta poácea. Os resultados evidenciaram, também, benefícios para o acúmulo de nitrogênio na parte aérea do milho quando combinado molibdênio a *Azospirillum brasilense* ou *Rhizobium tropici*. Portanto, a utilização destas rizobactérias associadas com nitrogênio ou molibdênio pode ser considerada alternativa para reduzir o uso de adubos nitrogenados e/ou potencializar seu efeito.

Nos experimentos 1 e 2 a aplicação das rizobactérias e molibdênio foi realizada via sementes. Contudo, há outras formas, como por exemplo, por meio foliar. Portanto, é recomendável a investigação quanto a diferentes formas de aplicação de rizobactérias e molibdênio no milho.

Embora no Brasil a recomendação de uso do *Rhizobium tropici* seja para o feijoeiro a utilização desta espécie microbiana no milho evidenciou as contribuições como RPCPs. Dessa forma, é interessante considerar a possibilidade de pesquisas com outras RPCPs no milho, como por exemplo, *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens* que são recomendadas para outras espécies de plantas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, C. A. de; LOPES, A. S.; SANTOS, G. C. G. dos. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: SBCS, 2007. p. 646-724.
- ABDALLA, M.; RICHARDS, M.; POGSON, M.; SMITH, J. U.; SMITH, P. Estimating the effect of nitrogen fertilizer on the greenhouse gas balance of soils in Wales under current and future climate. **Regional Environmental Change**, Avignon, v. 16, n. 8, p. 2357-2368, Dec. 2016.
- ANDREOTE, F. D.; LACAVALA, P. T.; AZEVEDO, J. L. Diversidade molecular de microrganismos endofíticos. In: FIGUEIREDO, M. do V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. de R. S. e S. (Ed.). **Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba: Agrolivros, 2008. p. 233-257.
- ARATANI, R. G.; FERNANDES, F. M.; MELLO, L. M. M. de. Adubação nitrogenada de cobertura na cultura do milho irrigado, em sistema plantio direto. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, v. 5, n. 9, p. 1-10, jun. 2006.
- ARAÚJO, A. S. F. de; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. de. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N<sub>2</sub> e o crescimento das plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 1, p. 182-185, jan./fev. 2010.
- ARAÚJO, A. S. F. de; CARVALHO, E. M. S. **Fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Teresina: Universidade Federal do Piauí, 2006. 4 p. (Comunicado técnico, 11).
- ARAÚJO, E. de O.; MERCANTE, F. M.; VITORINO, A. C. T. Effect of nitrogen fertilization associated with inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* on corn. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v. 10, n. 3, p. 137-145, Jan. 2015.
- ARAÚJO, F. F. de; GUABERTO, L. M.; SILVA, I. F. da. Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 41, n. 3, p. 52-527, set. 2012.
- ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília, DF: Embrapa Arroz e Feijão, 1994. 236 p. (Documentos, 44).
- ARAÚJO, S. C. de. **Realidade e perspectivas para o uso de *Azospirillum* na cultura do milho**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute - Brasil, 2008. 31 p. (Informações agronômicas, 122).
- ASCOLI, A. A.; SORATTO, R. P.; MARUYAMA, W. I. Aplicação foliar de molibdênio, produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro irrigado. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p. 377-384, abr./jun. 2008.

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**, Leicestershire, v. 29, n. 5/6, May/June 1997.

BÁRBARO, I. M.; MACHADO, P. C.; BÁRBARO JÚNIOR, L. S.; TICELLI, M.; MIGUEL, F. B.; SILVA, J. A. A. da. Produtividade da soja em resposta à inoculação padrão e co-inoculação. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 5, n. 1, jan./jun. 2009.

BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Disponível em: <[https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiPguG87OrUAhVDQpAKHcnbA5UQFggmMAA&url=https%3A%2F%2Fdspace.uevora.pt%2Frdpc%2Fhandle%2F10174%2F10804&usg=AFQjCNEo\\_rDKQskT5dVDQ1kXxU4pLQl-3w](https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiPguG87OrUAhVDQpAKHcnbA5UQFggmMAA&url=https%3A%2F%2Fdspace.uevora.pt%2Frdpc%2Fhandle%2F10174%2F10804&usg=AFQjCNEo_rDKQskT5dVDQ1kXxU4pLQl-3w)>. Acesso em: 7 jan. 2016.

BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, v. 160A, n. 901, p. 268-282, May 1937.

BÉCQUER, C. J.; SALAS, B.; ÁVILA, U.; NÁPOLES, P. J. A.; ULLOA, L.; SUÁREZ, Y.; COLINA, O. L. Selection of *Rhizobium* strains, inoculated in corn (*Zea mays*, L.), in field conditions in cattle ecosystems of Sancti Spiritus, Cuba. **Cuban Journal of Agricultural Science**, Havana, v. 45, n. 4, p. 445-449, Set./Dec. 2011.

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. de P.; MACHADO, B. da C. Sideróforos: “uma resposta dos microrganismos”. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6B, p. 1155-1164, nov./dez. 2002.

BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. **O milho e o clima**. Porto Alegre: Emater, 2014. 84 p.

BERTOGLIO JUNIOR, C.; ASSMANN, E. J.; GAI, V. F.; ROSA, H. A. R. Desenvolvimento inicial de plântulas de milho (*Zea mays* L.) em diferentes dosagens de inoculação das sementes. In: ENCONTRO CIENTÍFICO CULTURA INTERINSTITUCIONAL, 12., 2014, Cascavel. **Anais...** Cascavel: Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz, 2014. p. 1-5.

BIESDORF, E. M.; BIESDORF, E. M.; TEIXEIRA, M. F. F.; DIETRICH, O. H.; PIMENTEL, L. D.; ARAÚJO, C. de. Métodos de aplicação de nitrogênio na cultura do milho em solo de cerrado. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 3, n. 1, p. 44-50, jan./mar. 2016.

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

BRANDÃO JÚNIOR, O.; HUNGRIA, M. Efeito de concentrações de solução açucarada na aderência do inoculante turfoso às sementes, na nodulação e no rendimento da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, n. 3, jul./set. 2000.

BROCH, D. L.; RANNO, S. K. **Fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura do milho**. Disponível em: <[http://www.fundacaoms.org.br/base/br/media/attachments/26/26/5385dc19933c9005ab46b84a32174b176db9decceff6a\\_12-fertilidade-do-solo-adubacao-e-nutricao-da-cultura-do-milho\\_713827059.pdf](http://www.fundacaoms.org.br/base/br/media/attachments/26/26/5385dc19933c9005ab46b84a32174b176db9decceff6a_12-fertilidade-do-solo-adubacao-e-nutricao-da-cultura-do-milho_713827059.pdf)>. Acesso em: 27 ago. 2016.

CAIONI, S. **Doses de molibdênio e nitrogênio em milho safrinha e efeito residual na cultura da soja em plantio direto**. 2015. 51 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2015.

CAIRES, E. F. **Correção da acidez do solo em sistema plantio direto**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2013. 13 p. (Informações agronômicas, 141).

CALONEGO, J. C.; PALMA, H. N.; FOLONI, J. S. S. Adubação nitrogenada foliar com sulfato de amônio e uréia na cultura do milho. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v. 1, n. 1, p. 34-44, jan./jun. 2012.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F. de; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: SBCS, 2007. p. 646-724.

CANTARELLA, H.; DUARTE, A. P. Manejo da fertilidade do solo para a cultura do milho. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologias de produção do milho**. 3. ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2014. p. 139-182.

CARMO, M. S. do; CRUZ, S. C. S.; SOUZA, E. J. de; CAMPOS, L. F. C.; MACHADO, C. G. Doses e fontes de nitrogênio no desenvolvimento e produtividade da cultura de milho doce (*Zea mays* convar. *Saccharata* var. *rugosa*). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 1, p. 223-231, mar. 2012.

CARVALHO, D. D. C.; OLIVEIRA, D. F.; PASQUAL, M.; CAMPOS, V. P. Rizobactérias produtoras de promotores do crescimento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 338-341, out./dez. 2009.

CARVALHO, E. V. de; CANCELLIER, L. L.; AFFÉRI, F. S.; DOTTO, M. A.; PELUZIO, J. M.; CRUZ, O. de S. Crescimento de milho em níveis contrastantes de nitrogênio e sua correlação com produtividade de grãos. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 8, n. 3, p. 351-357, jul./set. 2013.

CARVALHO, N. L. de; ZABOT, V. Nitrogênio: nutriente ou poluente? **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, RS, v. 6, n. 6, p. 960-974, mar. 2012.

CASSINI, S. T. A.; FRANCO, M. C. Fixação biológica de nitrogênio: microbiologia, fatores ambientais e genéticos. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV. 2006. p. 19-40.

COELHO, A. M. **Nutrição e adubação do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10 p. (Circular técnica, 78).

COELHO, A. M. **Manejo da adubação nitrogenada na cultura do milho**. Disponível em: <[http://www.cnpm.embrapa.br/grao/24\\_edicao/grao\\_em\\_grao\\_artigo\\_01.htm](http://www.cnpm.embrapa.br/grao/24_edicao/grao_em_grao_artigo_01.htm)>. Acesso em: 28 fev. 2016.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de. **Nutrição e adubação do milho**. Disponível em: <<http://www.dpv24.iciag.ufu.br/new/dpv24/Apostilas/NUTRICA0%20E%20ADUB.%20MILHO%20-%20CNPMS.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2016.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de; PITTA, G. V. E.; ALVES, V. M. C.; HERMANI, L. C. **Nutrição e adubação do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. 10 p. (Sistema de produção, 1). Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_7\\_ed/feraduba.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/feraduba.htm)>. Acesso em: 15 fev. 2016.

COELHO, A. M.; RESENDE, A. V. de. **Exigências nutricionais e adubação do milho safrinha**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 8 p. (Circular técnica, 111).

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. da S. F.; NAVES, D. C. de F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. de S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 3, p. 304-311, jul./set. 2015.

CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHÃES, P. C. **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008a. 517 p.

CRUZ, J. C.; MAGALHÃES, P. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; MOREIRA, J. A. A. **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. 338 p. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas).

CRUZ, S. C. S.; PEREIRA, F. R. da S.; SANTOS, J. R.; ALBUQUERQUE, A. W. de; PEREIRA, R. G. Adubação nitrogenada para o milho cultivado em sistema plantio direto, no Estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n.1, p. 62-68, jan./fev. 2008b.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F. de. **Cultivo do milho: plantio**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 9 p. (Sistema de produção, 1). Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_6\\_ed/manejomilho.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/manejomilho.htm)>. Acesso em: 12 fev. 2016.

CUNHA, F. N.; SILVA, N. F. da; BASTOS, F. J. de C.; CARVALHO, J. J. de; MOURA, L. M. de F.; TEIXEIRA, M. B.; ROCHA, A. C. da; SOUCHIE, E. L. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, n. 3, p. 261-272, set./dez. 2014.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n.10, p. 1023-1029, out. 2013.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MENEZES, C. R. J.; FREIBERGER, M. B.; CASTOLDI, G.; GONÇALVES, E. D. V. Maize response to inoculation with strains of plant growth-promoting bacteria. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, n. 7, p. 606-611, jul. 2016a.

DARTORA, J.; MARINI, D.; GONÇALVES, E. D. V.; GUIMARÃES, V. F. Co-inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* in maize. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, n. 6, p. 545-550, jun. 2016b.

DEUNER, S.; NASCIMENTO, R. do; FERREIRA, L. S.; BADINELLI, P. G.; KERBER, R. S. Adubação foliar e via solo de nitrogênio em plantas de milho em fase inicial de desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p.1359-1365, set./out. 2008.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 1995. 60 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/98370/1/Como-isolar-e-identificar-bacterias.pdf>>. Acesso em: 1 mar. 2016.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; MERTIN, T. N.; SILVA, M. R. da; PAVINATO, P. S.; HABITZREITER, T. L. Adubação mineral com cobalto e molibdênio na cultura da soja. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 2741-2752, out./dez. 2012.

ECKERT, B.; WEBER, O. B.; KIRCHHOF, G.; HALBRITTER, A.; STOFFELS, M.; HARTMANN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C<sub>4</sub>-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 51, n. 1, p. 17-26, Jan./Feb. 2001.

FANCELLI, A. L. Ecofisiologia, fenologia e implicações básicas de manejo. In: BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. (Ed.). **Milho: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Ed. da UFV. 2015. p. 108-136.

FAVARIN, J. L.; TEZOTTO, T.; RAGASSI, C. F. **Uso racional de micronutrientes na cultura de milho**. Piracicaba: International Plant Nutrition Institute, 2008. 8 p. (Informações agronômicas, 122).

FEDRIZZI, S. M. G. **Produção de metabólitos microbianos e sideróforos de isolados provenientes de terra preta antropogênica da Amazônia ocidental**. 2006. 117 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

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

FERREIRA, H. de A.; SOUZA, A. dos S.; SOUZA, D. A. de; SOUZA, A. dos S.; MARACAJÁ, P. B. Componentes de produção e produtividade do milho submetido a doses de nitrogênio no semiárido paraibano. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 4, p. 90-96, out./dez. 2010.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: Funep, 2007. 576 p.

FRANÇA, S.; MIELNICZUK, J.; ROSA, L. M. G.; BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J. I. Nitrogênio disponível ao milho: crescimento, absorção e rendimento de grãos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 11, p. 1143-1151, nov. 2011.

FRANDOLOSO, J. F.; LANA, M. do C.; FONTANIVA, S.; CZYCZA, R. V. Eficiência de adubos fosfatados associados ao enxofre elementar na cultura do milho. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 57, n. 5, p. 686-694, set./out. 2010.

GANAPATHY, B. A.; SAVALGI, V. P. Effect of micronutrients on the performance of *Azospirillum brasilense* on the nutrient uptake, growth and yield in maize crop. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, Krishnagar, v. 19, n. 1, p. 66-70, Jan./Dec. 2006.

GARCIA, G.; CARDOSO, A. A.; SANTOS, O. A. M. dos. Da escassez ao estresse do planeta: um século de mudanças no ciclo do nitrogênio. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 9, p. 1468-1476, set. 2013.

GASPARETO, D.; RIBON, A. A.; HERMÓGENES, V. T. L.; FERNANDES, K. L. Efeito de doses de nitrogênio e molibdênio na produtividade do milho híbrido em Campo Grande - MS. **Revista Campo Digital**, Ponta Grossa, v. 9, n. 2, p. 37-44, dez. 2014.

GOMES, R. F.; SILVA, A. G. da; ASSIS, R. L. de; PIRES, F. R. Efeito de doses e da época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agronômicos da cultura do milho sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 31, n. 5, p. 931-938, set./out. 2007.

GRUBBS, F. E. Procedures for detecting outlying observations in samples. **Technometrics**, Princeton, v. 11, n. 1, p. 1-21, Feb. 1969.

GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; JACOB NETO, J. Adição de molibdênio ao inoculante turfoso com bactérias diazotróficas usado em duas cultivares de arroz irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 3, p. 393-398, mar. 2007.

HAHN, L.; SÁ, E. L. S. de; SILVA, W. R. da; MACHADO, R. G.; DAMASCENO, R. G. Promoção de crescimento de híbridos de milho inoculados com rizóbios e bactérias diazotróficas associativas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 19, n. 1/2, p. 33-40, jan./dez. 2013.

HOFFMANN, L. V. Biologia molecular da fixação biológica do nitrogênio. In: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S. dos S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico. 2007. p. 153-164.

HOSSAIN, S.; MARTENSSON, A. Potential use of *Rhizobium* spp. to improve fitness of non-nitrogen-fixing plants. **Acta Agriculturae Scandinavica**, London, v. 58, n. 4, p. 352-358, Nov. 2008.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense***: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 38 p. (Documentos, 325).

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**, Crawley, v. 331, n. 6, p. 413-425, June 2010.

KANEKO, F. H.; SABUNDJIAN, M. T.; ARF, O.; FERREIRA, J. P.; GITTI, D. de C.; NASCIMENTO, V.; LEAL, A. J. F. Análise econômica do milho em função da inoculação com *Azospirillum*, fontes e doses de N em cerrado de baixa altitude. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 14, n. 1, p. 23-37, jan./abr. 2015.



KAPPES, C.; ZANCANARO, L.; LOPES, A. A.; KOCH, C. V.; FUJIMOTO, G. da R.; FERREIRA, V. E. N. Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha. In: SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA, 12., 2013, Dourados. **Resumos...** Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2013. p. 1-6.

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

LANDAU, E. C.; SANS, L. M. A.; SANTANA, D. P. **Cultivo do milho: clima e solo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 3 p. (Sistema de produção, 2). Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho8ed/climaesolo.htm>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

LEITE, U. T.; AQUINO, B. F. de; ROCHA, R. N. C.; SILVA, J. da. Níveis críticos foliares de boro, cobre, manganês e zinco em milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 19, n. 2, p. 115-125, maio/ago. 2003.

LEITE, L. F. C.; ARAÚJO, A. S. F. **Ecologia microbiana do solo**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007. 24 p. (Documentos, 164).

LIMA, A. S. T. de; BARRETO, M. do C. S.; ARAÚJO, J. M.; SELDIN, L.; BURITY, H. A.; FIGUEIREDO, M. do V. B. Sinergismo *Bacillus*, *Brevibacillus* e, ou, *Paenibacillus* na simbiose *Bradyrhizobium* - caupi. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 713-721, maio/jun. 2011.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10 p. (Circular técnica, 76).

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 23 p. (Circular técnica, 22).

MARIN, V. A.; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. R. dos S.; BALDANI, J. I. **Fixação biológica de nitrogênio: bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 24 p. (Documentos, 91).

MARINI, D. **Respostas de híbridos de milho à associação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada**. 2012. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2012.

MARINI, D.; GUIMARÃES, V. F.; DARTORA, J.; LANA, M. C.; PINTO JÚNIOR, A. S. Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 62, n. 1, p. 117-123, jan./fev. 2015.

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. **AMB Express**, London, v. 3, n. 1, p. 21, Dec. 2013.

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F. J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. Maize growth promotion by inoculation with *Azospirillum brasilense* and metabolites of *Rhizobium tropici* enriched on lipo-chitooligosaccharides (LCOs). **AMB Express**, London, v. 5, n. 1, p. 71, Dec. 2015.

MARQUES, D. **Guia do milho: tecnologia do campo à mesa**. Disponível em: <<http://cib.org.br/wp-content/uploads/2011/10/GuiaMilhoSet2010.pdf>>. Acesso em: 5 fev. 2016.

MARTÍNEZ-ROMERO, E.; SEGOVIA, L.; MERCANTE, F. M.; FRANCO, A. A.; GRAHAM, P.; PARDO, M. A. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. Trees. **International Journal of Systematic Bacteriology**, London, v. 41, n. 3, p. 417-426, July/Set. 1991.

MARTÍNEZ-VIVEROS, O.; JORQUERA, M. A.; CROWLEY, D. E.; GAJARDO, G.; MORA, M. L. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Temuco, v. 10, n. 3, p. 293-319, July 2010.

MAZZUCHELLI, R. de C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAÚJO, F. F. de. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 10, n. 2, p. 40-47, jul./dez. 2014.

MEIRA, F. de A.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; SÁ, M. E. de; ANDRADE, J. A. da C. Fontes e épocas de aplicação do nitrogênio na cultura do milho irrigado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 275-284, abr./jun. 2009.

MELO, I. S. de. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. (Ed.). **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa CNPMA. 1998. p. 87-116.

MELO, L. C. A.; AVANZI, J. C.; CARVALHO, R.; SOUZA, F. S. de; PEREIRA, J. L. A. R.; MENDES, A. D. R.; MACEDO, G. B. Nutrição e produção de matéria seca de milho submetido a calagem e adubação sulfatada. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 2, p. 193-199, abr./jun. 2011.

MENDONÇA, H. L. de. **Seleção de rizobactérias promotoras de crescimento e indutoras de resistência sistema em feijoeiro**. 2006. 67 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

MORAIS, T. P.; BRITO, C. H. de; FERREIRA, A. de S.; LUZ, J. M. Q. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 62, n. 6, p. 589-596, nov./dez. 2015.

MOREIRA, F. M. de S.; LIMA, A. S.; JESUS, E. da C.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; FLORENTINO, L. A. Bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico que nodulam leguminosas. In: MOREIRA, F. M. de S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R.; STÜRMER, S. L. (Ed.). **O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal**. Lavras: Ed. da UFLA. 2013a. p. 325-340.

MOREIRA, F. M. de S.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de; SILVA, K. da. Bactérias associativas fixadoras de nitrogênio atmosférico. In: MOREIRA, F. M. de S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R.; STÜRMER, S. L. (Ed.). **O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal**. Lavras: Ed. da UFLA. 2013b. p. 341-350.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. Fixação biológica de nitrogênio atmosférico. In: MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Ed. da UFLA. 2006. p. 449-542.

MÜLLER, T. M. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada a níveis crescentes de adubação nitrogenada e o uso de bioestimulante vegetal na cultura do milho**. 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.

MÜLLER, T. M.; BASI, S.; LOPES, E. C. P.; PACENTCHUK, F.; NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* no tratamento de sementes e no sulco de semeadura sobre a cultura do milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindóia. **Resumos...** Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012. p. 1659-1664.

MÜLLER, T. M.; SANDINI, I. E.; RODRIGUES, J. D.; NOVAKOWISKI, J. H.; BASI, S.; KAMINSKI, T. H. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 46, n. 2, p. 210-215, fev. 2016.

NEHL, D. B.; ALLEN, S. J.; BROWN, J. F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 1-20, Jan. 1997.

NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Coinoculação: técnica favorece a soja e o feijão. **Campo & Negócios**, Uberlândia, v. 11, n. 127, p. 52-53, set. 2013.

NOGUEIRA, M. C. S. Orthogonal contrasts: definitions and concepts. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 1, p. 118-124, jan./fev. 2004.

NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A. de; NOVAKOWISKI, J. H.; CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1687-1698, out./dez. 2011.

OFFEMANN, L. C.; GUIMARÃES, V. F.; SOUZA, R. F. B. de; INAGAKI, A. M.; BATTISTUS, A. G.; RAMPIM, L. Interações entre bactérias *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* com adubação nitrogenada, visando o fornecimento de nitrogênio para o milho. **Scientia Agraria Paranaensis**, Cascavel, v. 14, suplemento, p. 276-280, dez. 2015.

OLIVEIRA, J. de P.; SILVA, M. L. R. B. da; LIRA, M. do C. C. P. de; BURITY, H. A. Fixação do N<sub>2</sub> associativa e em vida livre. In: FIGUEIREDO, M. do V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. de R. S. e S. (Ed.). **Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba: Agrolivros, 2008. p. 97-118.

OSÓRIO FILHO, B. D.; BINZ, A.; LIMA, R. F.; GIONGO, A.; SÁ, E. L. S. de. Promoção de crescimento de arroz por rizóbios em diferentes níveis de adubação nitrogenada. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 46, n. 3, p. 478-485, mar. 2016.

PASSOS, J. A. L. **Avaliação da transferência de metais pesados no sistema solo-planta e o seu desenvolvimento**: estudo de caso do lodo da CETREL. 2004. 113 f. Dissertação (Mestrado em Gerenciamento e Tecnologia Ambientais no Processo Produtivo) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2004.

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

PEREIRA, F. R. da S. **Doses e formas de aplicação de molibdênio na cultura do milho**. 2010. 141 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

PEREIRA, F. R. da S.; BRACHTVOGEL, E. L.; CRUZ, S. C. S.; BICUDO, S. J.; MACHADO, C. G.; PEREIRA, J. C. Qualidade fisiológica de sementes de milho tratadas com molibdênio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 450-456, jul./set. 2012.

PEREIRA, L. de M.; PEREIRA, E. de M.; REVOLTI, L.T. M.; ZINGARETTI, S. M.; MORO, G. V. Qualidade da semente, índice de conteúdo de clorofila e teor de nitrogênio foliar em milho inoculado com *Azospirillum brasilense*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 3, p. 630-637, jul./set. 2015.

PERES, A. R.; RODRIGUES, R. A. F.; PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; FRANCO, A. A. Doses de inoculante contendo *Azospirillum brasilense* via foliar e doses de nitrogênio em cobertura em milho safrinha. In: SEMINÁRIO NACIONAL MILHO SAFRINHA, 12., 2013, Dourados. **Resumos...** Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2013. p. 1-6.

PICCININ, G. G.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; SUZUKAWA, A. K.; DAN, L. G. M.; GODINHO, F. B. Agronomic performance of maize in response to seed inoculation with *Azospirillum brasilense* associated with nitrogen doses and bioregulator. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 13, n. 3/4, p. 67-73, July/Oct. 2015.

PINHO, R. G. V.; SANTO, A. de O.; PINHO, I. V. V. Botânica. In: BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. (Ed.). **Milho**: do plantio à colheita. Viçosa, MG: Ed. da UFV. 2015. p. 108-136.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico do solo**: a agricultura em regiões tropicais. São Paulo: Nobel, 2002. 549 p.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 61, n. 2, p. 209-218, mar./abr. 2014.

QUEIROZ, A. M. de; SOUZA, C. H. E. de; MACHADO, V. J.; LANA, R. M. Q.; KORNDORFER, G. H.; SILVA, A. de A. Avaliação de diferentes fontes e doses de nitrogênio na adubação da cultura do milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 10, n. 3, p. 257-266, set./dez. 2011.

REIS, V. M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 13 p. (Documentos, 232).

REIS, V. M.; TEIXEIRA, K. R. dos S. **Fixação biológica de nitrogênio - o estado da arte**. Disponível em: <<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/biotacap6ID-cgUrYruYKy.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2016.

REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J. da; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p. 214-226, set./dez. 2013.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, v. 26, n. 103, p.1-20, set. 2003.

RODRIGUES, M. A. de C.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; GARCIA, C. M. P.; ANDREOTTI, M. Adubação com KCl revestido na cultura do milho no cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 18, n. 2, p. 127-133, fev. 2014.

ROESCH, L. F. W.; OLIVARES, F. L.; PASSAGLIA, L. M. P.; SELBACH, P. A.; SÁ, S. de; CAMARGO, F. A. O. de. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Hudson, v. 22, n. 9, p. 967-974, Set. 2006

ROSENBLUETH, M.; ROMERO, E. M. *Rhizobium etli* maize populations and their competitiveness for root colonization. **Archives of Microbiology**, Heidelberg, v. 181, n. 1, p. 337-344, Jan./June 2004.

SANTOS, M. M. dos. **Nitrogênio <sup>15</sup>N e atividade das enzimas redutase do nitrato e glutamina sintetase na cultura do milho em plantio direto**. 2008. 44 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

SANTOS, C. E. de R. S.; FREITAS, A. D. S. de; VIEIRA, I. M. de M. B.; COLAÇO, W. Fixação de N<sub>2</sub> em leguminosas tropicais. In: FIGUEIREDO, M. do V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. de R. S. e S. (Ed.). **Microrganismos e agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba: Agrolivros, 2008. p. 233-257.

SFREDO, G. J.; OLIVEIRA, M. C. N. de. **Soja: molibdênio e cobalto**. Londrina: Embrapa Soja, 2010, 34 p. (Documentos, 322).

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, Oxford, v. 52, n. 3/4, p.591-611, Dec. 1965.

SIGNOR, D.; CERRI, C. E. P.; CONANT, R. N<sub>2</sub>O emissions due to nitrogen fertilizer applications in two regions of sugarcane cultivation in Brazil. **Environmental Research Letters**, Bristol, v. 8, n. 1, p. 1-9, Feb. 2013.

SILVA, M. A. da. **Bactérias diazotróficas e adubação molíbdica na contribuição da fixação biológica de N<sub>2</sub> em cana planta**. 2016. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

SONG, M.; XU, X.; HU, Q.; TIAN, Y.; OUYANG, H.; ZHOU, C. Interactions of plant species mediated plant competition for inorganic nitrogen with soil microorganisms in an alpine meadow. **Plant Soil**, New York, v. 297, n. 1-2, p. 127-137, Aug. 2007.

SOUZA, J. A.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; ANDREOTTI, M.; SÁ, M. E. de; ARF, O. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha irrigado em plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 2, p. 447-454, abr./jun. 2011.

SPOLAOR, L. T.; GONÇALVES, L. S. A.; SANTOS, O. J. A. P. dos; OLIVEIRA, A. L. M. de; SCAPIM, C. A.; BERTAGNA, F. A. B.; KUKI, M. C. Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance. **Bragantia**, Campinas, v. 75, n. 1, p. 33-40, jan./mar. 2016.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; IKEDA, A. C.; HUNGRIA, M.; ADAMOSKI, D.; KAVACORDEIRO, V.; GLIENKE, C.; GALLI-TERASAWA, L. V. Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. **AMB Express**, London, v. 4, n. 26, p. 2-9, May. 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Tradução Eliane Romanato Santarém, Leandro Vieira Astarita, Lúcia Rebello Dillenburg, Luís Mauro Gonçalves Rosa, Paulo Luís de Oliveira. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.

TAN, K. Z.; RADZIAH, O.; HALIMI, M. S.; KHAIRUDDIN, A. R.; HABIB, S. H.; SHAMSUDDIN, Z. H. Isolation and characterization of rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on growth of rice seedlings. **American Journal of Agricultural and Biological Science**, New York, v. 9, n. 3, p. 342-360, Apr. 2014.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174 p. (Boletim técnico, 5).

TEIXEIRA, A. R. **Doses de molibdênio nas culturas do milho comum e milho-pipoca**. 2006. 37 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

VALENTINI, L.; COELHO, F. C.; FERREIRA, M. dos S. Teor de nitrogênio foliar e produtividade de três cultivares de milho (*Zea mays* L.) submetidos às adubações nitrogenada e molíbdica. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 52, n. 302, p. 567-577, jul./ago. 2005.

VAZQUEZ, G. H.; SANCHES, A. S. Formas de aplicação de micronutrientes na cultura da cana-de-açúcar. **Revista Nucleus**, Ituverava, v. 7, n. 1, p. 267-276, abr. 2010.

- VELOSO, C. A. C.; FRANZINI, V. I.; SILVA, A. R. B.; SILVA, A. R. **Resposta do milho a adubação fosfatada em um latossolo amarelo do Estado do Pará.** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2012. 15 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 83).
- VERGÜTZ, L.; NOVAIS, R. F. de. Recomendação de corretivos e adubação. In: BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. (Ed.). **Milho: do plantio à colheita.** Viçosa, MG: Ed. da UFV. 2015. p. 108-136.
- VERONEZI, S. D. F.; COSTA, M. R.; SILVA, A. T.; MERCANTE, F. M. Co-inoculação de rizóbio e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Cadernos de Agroecologia**, Glória de Dourados, v. 7, n. 2, p. 1-5, dez. 2012.
- VIEIRA, C. Adubação mineral e calagem. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão.** 2. ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV. 2006. p. 115-142.
- VIEIRA JÚNIOR, P. A. Milho. In: CASTRO, P. R. C.; KLUNGE, R. A. (Ed.). **Ecofisiologia de cultivos anuais: trigo, milho, soja, arroz e mandioca.** São Paulo: Nobel, 1999. p. 41-72.
- WEIR, R. G.; HUDSON, A. Molybdenum deficiency in maize in relation to seed reserves. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 6, n. 20, p. 35-41, June 1966
- WEISMANN, M. **Fases de desenvolvimento da cultura do milho.** Disponível em: <<http://www.atividaderural.com.br/artigos/4fb3e56aa.pdf>>. Acesso em: 10 fev. 2016.
- YADEGARI, M.; RAHMANI, H. A.; NOORMOHAMMADI, G.; AYNEBAND, A. Evaluation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds inoculation with *Rhizobium phaseoli* and plant growth promoting rhizobacteria on yield components. **Pakistan Journal of Biological Science**, Faisalabad, v. 11, n. 15, p. 1935-1939, Aug. 2008.
- ZHANG, K.; ZHENG, H.; CHEN, F.; LI, R.; YANG, M.; OUYANG, Z.; LAN, J.; XIANG, X. Impact of nitrogen fertilization on soil-atmosphere greenhouse gas exchanges in eucalypt plantations with different soil characteristics in southern China. **PLOS ONE**, California, v. 12, n. 2, p. 1-14, Feb. 2017.

## APÊNDICES



APÊNDICE A – Pressupostos da análise de variância da altura da planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF), colmo (MSC), parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), do milho AL Bandeirante, pelos testes de Bartlett (homogeneidade de variâncias) e de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros)

Variáveis	Transformação	Bartlett		Shapiro-Wilk	
		$\chi^2$	H0	W	H0
AP	-	51,43	NR	0,99	NR
DBC	-	49,68	NR	0,98	NR
MSF	-	35,54	NR	0,98	NR
MSC	-	66,36	R	0,98	NR
MSC	$\sqrt{x}$	52,32	NR	0,99	NR
MSPA	-	51,37	NR	0,99	NR
MSR	-	36,19	NR	0,99	NR
MST	-	40,45	NR	0,95	NR
NAPA	-	29,86	NR	0,99	NR

NR: não rejeita; R: rejeita

APÊNDICE B – Pressupostos da análise de variância da altura das plantas (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas das folhas (MSF), colmo (MSC), pendão (MSP), parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA), do milho AG 1051, pelos testes de Bartlett (homogeneidade de variâncias) e de Shapiro-Wilk (normalidade dos erros)

Variáveis	Bartlett		Shapiro-Wilk	
	$\chi^2$	Hipótese	W	Hipótese
AP	9,50	NR	0,99	NR
DBC	12,02	NR	0,97	NR
MSF	10,03	NR	0,97	NR
MSC	10,77	NR	0,97	NR
MSP	12,44	NR	0,99	NR
MSPA	5,73	NR	0,98	NR
MSR	20,53	NR	0,98	NR
MST	15,38	NR	0,97	NR
NAPA	23,05	NR	0,99	NR

NR: não rejeita

APÊNDICE C – Análise de variância da altura das plantas (AP), diâmetro basal do colmo (DBC) e massas secas das folhas (MSF) e do colmo (MSC) do milho AL Bandeirante do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Rio Branco, AC, 2015

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		AP	DBC	MSF	MSC
Ab	1	926,65 <sup>**</sup>	0,18 <sup>*</sup>	77,34 <sup>**</sup>	5,96 <sup>**</sup>
Rt	1	1,23 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	0,52 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>
N	1	1456,38 <sup>**</sup>	0,26 <sup>**</sup>	289,48 <sup>**</sup>	8,81 <sup>**</sup>
Mo	4	28,45 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	8,91 <sup>ns</sup>	0,23 <sup>ns</sup>
Ab x Rt	1	39,52 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,64 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	931,82 <sup>**</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	42,08 <sup>**</sup>	1,98 <sup>**</sup>
Ab x Mo	4	170,44 <sup>**</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	1,30 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>
Rt x N	1	333,59 <sup>**</sup>	0,14 <sup>*</sup>	83,50 <sup>**</sup>	1,08 <sup>*</sup>
Rt x Mo	4	37,85 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	1,38 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>
N x Mo	4	10,32 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x N	1	446,11 <sup>**</sup>	0,14 <sup>*</sup>	27,08 <sup>**</sup>	0,50 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x Mo	4	37,41 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	1,85 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>
Ab x N x Mo	4	23,33 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	2,91 <sup>ns</sup>	0,18 <sup>ns</sup>
Rt x N x Mo	4	37,56 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	2,51 <sup>ns</sup>	0,15 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x N x Mo	4	5,37 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	1,92 <sup>ns</sup>	0,17 <sup>ns</sup>
Erro	160	34,29	0,03	2,72	0,19
Total	199	-	-	-	-
CV (%)	-	10,85	14,71	12,42	13,43

Os dados da MSC foram transformados para  $\sqrt{x}$

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio; Mo: molibdênio

CV: Coeficiente de variação

APÊNDICE D – Análise de variância das massas secas da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AL Bandeirante do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Rio Branco, AC, 2015

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		MSPA	MSR	MST	NAPA
Ab	1	672,36**	917,67**	3066,32**	35744,62**
Rt	1	0,03 <sup>ns</sup>	1,00 <sup>ns</sup>	1,91 <sup>ns</sup>	3019,91 <sup>ns</sup>
N	1	1355,52**	1042,87**	4698,45**	124770,89**
Mo	4	45,50 <sup>ns</sup>	40,24 <sup>ns</sup>	130,93 <sup>ns</sup>	4648,40 <sup>ns</sup>
Ab x Rt	1	44,34 <sup>ns</sup>	80,80 <sup>ns</sup>	227,48 <sup>ns</sup>	2311,75 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	234,93**	309,23**	1046,31**	51933,08**
Ab x Mo	4	2,26 <sup>ns</sup>	28,09 <sup>ns</sup>	45,70 <sup>ns</sup>	3969,02 <sup>ns</sup>
Rt x N	1	220,32**	282,47**	1056,16**	44100,73**
Rt x Mo	4	9,44 <sup>ns</sup>	121,30*	163,43 <sup>ns</sup>	950,22 <sup>ns</sup>
N x Mo	4	3,89 <sup>ns</sup>	41,30 <sup>ns</sup>	63,73 <sup>ns</sup>	4122,86 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x N	1	74,83*	11,90 <sup>ns</sup>	167,65 <sup>ns</sup>	6921,68 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x Mo	4	13,57 <sup>ns</sup>	27,08 <sup>ns</sup>	48,31 <sup>ns</sup>	10399,78*
Ab x N x Mo	4	13,17 <sup>ns</sup>	81,68 <sup>ns</sup>	108,98 <sup>ns</sup>	9209,17*
Rt x N x Mo	4	21,80 <sup>ns</sup>	33,09 <sup>ns</sup>	62,50 <sup>ns</sup>	2419,70 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x N x Mo	4	16,02 <sup>ns</sup>	36,41 <sup>ns</sup>	96,51 <sup>ns</sup>	2142,85 <sup>ns</sup>
Erro	160	17,74	39,75	69,58	3313,94
Total	199	-	-	-	-
CV (%)	-	17,36	25,75	17,09	22,68

<sup>ns</sup> Não significativo; \* significativo a 5% de probabilidade; \*\* significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio; Mo: molibdênio

CV: Coeficiente de variação

APÊNDICE E – Análise de variância da altura das plantas (AP), diâmetro basal do colmo (DBC) e massa seca das folhas (MSF) do milho AG 1051 do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Cacoal, RO, 2016

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		AP	DBC	MSF
Ab	1	<0,01 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>	35,59 <sup>**</sup>
Rt	1	<0,01 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>
Mo	1	0,09 <sup>*</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	0,28 <sup>ns</sup>
N	1	0,08 <sup>*</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	1,97 <sup>ns</sup>
Ab x Rt	1	<0,01 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,63 <sup>ns</sup>
Ab x Mo	1	0,05 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	2,27 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	0,01 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	6,34 <sup>ns</sup>
Rt x Mo	1	0,01 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>
Rt x N	1	0,03 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	0,44 <sup>ns</sup>
Mo x N	1	<0,01 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	3,44 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x Mo	1	<0,01 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x N	1	0,03 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	1,75 <sup>ns</sup>
Ab x Mo x N	1	<0,01 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>
Rt x Mo x N	1	0,02 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	14,54 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x Mo x N	1	<0,01 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	0,21 <sup>ns</sup>
Erro	64	0,02	0,020	4,07
Total	79	-	-	-
CV (%)	-	7,64	8,04	5,61

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; Mo: molibdênio; N: nitrogênio

CV: Coeficiente de variação

APÊNDICE F – Análise de variância das massas secas do colmo (MSC), pendão (MSP) e parte aérea (MSPA) do milho AG 1051 do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Cacoal, RO, 2016

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MSC	MSP	MSPA
Ab	1	36,63 <sup>ns</sup>	3,91 <sup>ns</sup>	195,84 <sup>ns</sup>
Rt	1	20,64 <sup>ns</sup>	4,73 <sup>ns</sup>	49,22 <sup>ns</sup>
Mo	1	3,77 <sup>ns</sup>	0,37 <sup>ns</sup>	9,46 <sup>ns</sup>
N	1	257,80 <sup>*</sup>	2,88 <sup>ns</sup>	366,93 <sup>*</sup>
Ab x Rt	1	2,63 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	0,44 <sup>ns</sup>
Ab x Mo	1	13,75 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>	2,86 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	44,69 <sup>ns</sup>	4,37 <sup>ns</sup>	50,58 <sup>ns</sup>
Rt x Mo	1	7,89 <sup>ns</sup>	0,98 <sup>ns</sup>	4,15 <sup>ns</sup>
Rt x N	1	39,38 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	39,13 <sup>ns</sup>
Mo x N	1	12,86 <sup>ns</sup>	3,49 <sup>ns</sup>	53,38 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x Mo	1	17,49 <sup>ns</sup>	0,54 <sup>ns</sup>	25,26 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x N	1	0,66 <sup>ns</sup>	3,72 <sup>ns</sup>	5,95 <sup>ns</sup>
Ab x Mo x N	1	23,12 <sup>ns</sup>	2,87 <sup>ns</sup>	13,15 <sup>ns</sup>
Rt x Mo x N	1	11,15 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	47,14 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x Mo x N	1	5,25 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	5,73 <sup>ns</sup>
Erro	64	36,95	2,50	55,47
Total	79	-	-	-
CV (%)	-	8,79	23,23	6,65

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; Mo: molibdênio; N: nitrogênio  
 CV: Coeficiente de variação

APÊNDICE G – Análise de variância das massas secas da raiz (MSR) e total (MST) e do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AG 1051 do experimento realizado em esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, em Cacoal, RO, 2016

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		MSR	MST	NAPA
Ab	1	198,73 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>*</sup>	44785,97 <sup>ns</sup>
Rt	1	13,51 <sup>ns</sup>	114,29 <sup>ns</sup>	13799,97 <sup>ns</sup>
Mo	1	491,49 <sup>ns</sup>	364,57 <sup>ns</sup>	8430,38 <sup>ns</sup>
N	1	683,69 <sup>*</sup>	2052,34 <sup>**</sup>	41133,49 <sup>ns</sup>
Ab x Rt	1	33,74 <sup>ns</sup>	26,47 <sup>ns</sup>	552962,31 <sup>**</sup>
Ab x Mo	1	36,11 <sup>ns</sup>	18,64 <sup>ns</sup>	91545,94 <sup>ns</sup>
Ab x N	1	0,61 <sup>ns</sup>	40,05 <sup>ns</sup>	154271,02 <sup>*</sup>
Rt x Mo	1	117,15 <sup>ns</sup>	77,23 <sup>ns</sup>	102676,24 <sup>ns</sup>
Rt x N	1	3,16 <sup>ns</sup>	20,06 <sup>ns</sup>	26,99 <sup>*</sup>
Mo x N	1	84,73 <sup>ns</sup>	3,60 <sup>ns</sup>	89559,51 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x Mo	1	83,62 <sup>ns</sup>	16,97 <sup>ns</sup>	243572,58 <sup>**</sup>
Ab x Rt x N	1	88,60 <sup>ns</sup>	48,64 <sup>ns</sup>	56230,52 <sup>ns</sup>
Ab x Mo x N	1	235,33 <sup>ns</sup>	137,24 <sup>ns</sup>	2064,30 <sup>ns</sup>
Rt x Mo x N	1	91,40 <sup>ns</sup>	269,82 <sup>ns</sup>	90811,60 <sup>ns</sup>
Ab x Rt x Mo x N	1	3,43 <sup>ns</sup>	0,29 <sup>ns</sup>	9894,64 <sup>ns</sup>
Erro	64	144,95	175,55	28786,76
Total	79	-	-	-
CV (%)	-	17,94	7,40	19,35

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; Mo: molibdênio; N: nitrogênio  
 CV: Coeficiente de variação

APÊNDICE H – Desdobramento da análise de variância da altura da planta (AP) do milho AL Bandeirante, considerando a interação tripla de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [Rt(0) N(0)]	1	532,03**
Ab dt [Rt(0) N(1)]	1	186,63*
Ab dt [Rt(1) N(0)]	1	1436,48**
Ab dt [Rt(1) N(1)]	1	188,96*
Rt dt [Ab(0) N(0)]	1	255,83**
Rt dt [Ab(0) N(1)]	1	547,14**
Rt dt [Ab(1) N(0)]	1	1,35 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(1) N(1)]	1	16,13 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0) Rt(0)]	1	214,66*
N dt [Ab(0) Rt(1)]	1	2920,01**
N dt [Ab(1) Rt(0)]	1	27,53 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(1) Rt(1)]	1	5,71 <sup>ns</sup>
Erro	160	34,29

<sup>ns</sup> Não significativo; \* significativo a 5% de probabilidade; \*\* significativo a 1% de probabilidade  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio  
 (0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE I – Desdobramento da análise de variância do diâmetro basal do colmo (DBC) do milho AL Bandeirante, considerando a interação tripla de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [Rt(0) N(0)]	1	0,04 <sup>ns</sup>
Ab dt [Rt(0) N(1)]	1	0,14 <sup>*</sup>
Ab dt [Rt(1) N(0)]	1	0,18 <sup>*</sup>
Ab dt [Rt(1) N(1)]	1	0,02 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(0) N(0)]	1	0,16 <sup>*</sup>
Rt dt [Ab(0) N(1)]	1	0,12 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(1) N(0)]	1	0,03 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(1) N(1)]	1	0,02 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0) Rt(0)]	1	<0,01 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0) Rt(1)]	1	0,52 <sup>*</sup>
N dt [Ab(1) Rt(0)]	1	0,02 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(1) Rt(1)]	1	0,02 <sup>ns</sup>
Erro	160	0,03

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio;  
 (0) Ausência do fator; (1) Presença do fator



APÊNDICE J – Desdobramento da análise de variância da massa seca da folha (MSF) do milho AL Bandeirante, considerando a interação tripla de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [Rt(0) N(0)]	1	24,81 <sup>**</sup>
Ab dt [Rt(0) N(1)]	1	13,68 <sup>*</sup>
Ab dt [Rt(1) N(0)]	1	106,08 <sup>**</sup>
Ab dt [Rt(1) N(1)]	1	1,93 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(0) N(0)]	1	47,17 <sup>**</sup>
Rt dt [Ab(0) N(1)]	1	55,85 <sup>**</sup>
Rt dt [Ab(1) N(0)]	1	2,40 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(1) N(1)]	1	5,69 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0) Rt(0)]	1	20,97 <sup>**</sup>
N dt [Ab(0) Rt(1)]	1	358,01 <sup>**</sup>
N dt [Ab(1) Rt(0)]	1	10,87 <sup>*</sup>
N dt [Ab(1) Rt(1)]	1	52,29 <sup>**</sup>
Erro	160	2,72

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio;  
 (0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE K – Desdobramento da análise de variância da massa seca do colmo (MSC) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de *Azospirillum brasilense* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [N(0)]	1	7,40 <sup>**</sup>
Ab dt [N(1)]	1	0,54 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0)]	1	9,56 <sup>**</sup>
N dt [Ab(1)]	1	1,22 <sup>*</sup>
Erro	160	0,19

Dados transformados para  $\sqrt{x}$

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE L – Desdobramento da análise de variância da massa seca do colmo (MSC) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Rt dt [N(0)]	1	0,78 <sup>*</sup>
Rt dt [N(1)]	1	0,35 <sup>ns</sup>
N dt [Rt(0)]	1	1,86 <sup>**</sup>
N dt [Rt(1)]	1	8,03 <sup>**</sup>
Erro	160	0,19

Dados transformados para  $\sqrt{x}$

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE M – Desdobramento da análise de variância da massa seca da parte aérea (MSPA) do milho AL Bandeirante, considerando a interação tripla de *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [Rt(0) N(0)]	1	385,45**
Ab dt [Rt(0) N(1)]	1	167,86**
Ab dt [Rt(1) N(0)]	1	467,62**
Ab dt [Rt(1) N(1)]	1	5,54 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(0) N(0)]	1	69,32*
Rt dt [Ab(0) N(1)]	1	230,07**
Rt dt [Ab(1) N(0)]	1	40,12 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(1) N(1)]	1	0,02 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0) Rt(0)]	1	205,22**
N dt [Ab(0) Rt(1)]	1	1430,30**
N dt [Ab(1) Rt(0)]	1	58,50 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(1) Rt(1)]	1	191,58**
Erro	160	17,74

<sup>ns</sup> Não significativo; \* significativo a 5% de probabilidade; \*\* significativo a 1% de probabilidade  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio;  
 (0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE N – Desdobramento da análise de variância da massa seca da raiz (MSR) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de *Azospirillum brasilense* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [N(0)]	1	1146,15 <sup>**</sup>
Ab dt [N(1)]	1	80,75 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0)]	1	1243,94 <sup>**</sup>
N dt [Ab(1)]	1	108,17 <sup>ns</sup>
Erro	160	39,75

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE O – Desdobramento da análise de variância da massa seca da raiz (MSR) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Rt dt [N(0)]	1	158,56 <sup>**</sup>
Rt dt [N(1)]	1	124,91 <sup>ns</sup>
N dt [Rt(0)]	1	119,92 <sup>ns</sup>
N dt [Rt(1)]	1	1205,42 <sup>**</sup>
Erro	160	39,75

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE P – Desdobramento da análise de variância da massa seca total (MST) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de *Azospirillum brasilense* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [N(0)]	1	3847,50**
Ab dt [N(1)]	1	265,14 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0)]	1	5089,60**
N dt [Ab(1)]	1	655,17**
Erro	160	69,58

<sup>ns</sup> Não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE Q – Desdobramento da análise de variância da massa seca total (MST) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Rt dt [N(0)]	1	573,99**
Rt dt [N(1)]	1	484,09**
N dt [Rt(0)]	1	649,68**
N dt [Rt(1)]	1	5104,93**
Erro	160	69,58

<sup>ns</sup> Não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Rhizobium tropici*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE R – Desdobramento da análise de variância do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de *Azospirillum brasilense* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [N(0)]	1	86923,98 <sup>**</sup>
Ab dt [N(1)]	1	753,72 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(0)]	1	168848,80 <sup>**</sup>
N dt [Ab(1)]	1	7855,17 <sup>ns</sup>
Erro	160	3313,94

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE S – Desdobramento da análise de variância do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AL Bandeirante, considerando a interação dupla de *Rhizobium tropici* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Rt dt [N(0)]	1	12019,95 <sup>ns</sup>
Rt dt [N(1)]	1	35100,70 <sup>**</sup>
N dt [Rt(0)]	1	10257,06 <sup>ns</sup>
N dt [Rt(1)]	1	158614,56 <sup>**</sup>
Erro	160	3313,94

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE T – Desdobramento da análise de variância do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AG 1051, considerando a interação dupla de *Azospirillum brasilense* e nitrogênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [N(0)]	1	16407,04 <sup>ns</sup>
Ab dt [N(1)]	1	182649,95 <sup>*</sup>
N dt [Ab(0)]	1	18042,32 <sup>ns</sup>
N dt [Ab(1)]	1	177362,20 <sup>ns</sup>
Erro	64	28786,76

<sup>ns</sup> Não significativo; \* significativo a 5% de probabilidade

Ab: *Azospirillum brasilense*; N: nitrogênio;

(0) Ausência do fator; (1) Presença do fator

APÊNDICE U – Desdobramento da análise de variância do nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AG 1051, considerando a interação tripla *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici* e molibdênio

Fonte de variação	GL	Quadrados médios
Ab dt [Rt(0) Mo(0)]	1	6331,78 <sup>ns</sup>
Ab dt [Rt(0) Mo(1)]	1	766795,88 <sup>**</sup>
Ab dt [Rt(1) Mo(0)]	1	29074,05 <sup>ns</sup>
Ab dt [Rt(1) Mo(1)]	1	130665,09 <sup>*</sup>
Rt dt [Ab(0) Mo(0)]	1	555,21 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(0) Mo(1)]	1	701447,88 <sup>**</sup>
Rt dt [Ab(1) Mo(0)]	1	51311,69 <sup>ns</sup>
Rt dt [Ab(1) Mo(1)]	1	159696,33 <sup>*</sup>
Mo dt [Ab(0) Rt(0)]	1	365024,26 <sup>**</sup>
Mo dt [Ab(0) Rt(1)]	1	44011,71 <sup>ns</sup>
Mo dt [Ab(1) Rt(0)]	1	36834,80 <sup>ns</sup>
Mo dt [Ab(1) Rt(1)]	1	354,36 <sup>ns</sup>
Erro	64	28786,76

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*\*</sup> significativo a 1% de probabilidade; <sup>\*</sup> significativo a 5% de probabilidade  
 Ab: *Azospirillum brasilense*; Rt: *Rhizobium tropici*; Mo: molibdênio  
 (0) Ausência do fator; (1) Presença do fator



APÊNDICE V – Análise de variância do desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos em um contraste comparando ausência e presença de molibdênio das variáveis altura de planta (AP), diâmetro basal do colmo (DBC), massas secas da folha (MSF) e do colmo (MSC) do milho AL Bandeirante

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		AP	DBC	MSF	MSC
Contraste	1	3,37 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>	<0,01 <sup>ns</sup>
Erro	160	34,29	0,03	2,72	0,19

<sup>ns</sup> Não significativo

APÊNDICE W – Análise de variância do desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos em um contraste comparando ausência e presença de molibdênio das variáveis massas secas da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e total (MST) e nitrogênio acumulado na parte aérea (NAPA) do milho AL Bandeirante

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		MSPA	MSR	MST	NAPA
Contraste	1	0,65 <sup>ns</sup>	6,92 <sup>ns</sup>	9,09 <sup>ns</sup>	1,60 <sup>ns</sup>
Erro	160	17,74	39,75	69,58	3313,94

<sup>ns</sup> Não significativo