

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

LUCIANA SANTOS ARAÚJO

APLICAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* ASSOCIADO A REGULADORES DE
CRESCIMENTO E MICRONUTRIENTES NA CULTURA DO MILHO

UBERLÂNDIA-MG
MAIO - 2017

LUCIANA SANTOS ARAÚJO

APLICAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* ASSOCIADO A REGULADORES DE
CRESCIMENTO E MICRONUTRIENTES NA CULTURA DO MILHO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Agronomia, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Engenheiro
Agrônomo.

Orientador: Césio Humberto de Brito

UBERLÂNDIA – MG
MAIO - 2017

LUCIANA SANTOS ARAÚJO

APLICAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* ASSOCIADO A REGULADORES DE
CRESCIMENTO E MICRONUTRIENTES NA CULTURA DO MILHO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Agronomia, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Engenheiro
Agrônomo.

Adílio de Sá Júnior
Membro da Banca

Wender Santos Rezende
Membro da Banca

Prof. Dr. Césio Humberto de Brito
Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço á Deus pelo dom da vida, pela sabedoria que me concedeste e por segurar a minha mão nos momentos de desespero. Com toda certeza, Tu és a maior diferença em mim.

Agradeço aos meus pais pelo amor, pela confiança e por fazerem do possível ao impossível para o sucesso e bem-estar de suas filhas. À minha irmã pelo companheirismo e alegria em todos os momentos. A vocês todo o meu amor e cuidado, sou eternamente grata.

Agradeço á todos os meus parentes e amigos pelo carinho e solidariedade para comigo e minha família.

Agradeço á Universidade Federal de Uberlândia, em especial ao Instituto de Ciências Agrárias, por todo conhecimento profissional e pessoal que me proporcionaram durante a experiência acadêmica.

Agradeço á empresa Syngenta Seeds LTDA pelo apoio e suporte técnico deste trabalho.

Agradeço ao Grupo Técnico de Milho da Universidade Federal de Uberlândia, pela amizade construída entre os membros, pela disposição e incentivo na concretização deste trabalho.

Gosto muito daquilo que me desafia!

O fácil nunca me interessou!

Já o obviamente impossível sempre me atraiu e muito!

- Clarice Lispector

RESUMO

A aplicação de *Azospirillum*, reguladores de crescimento e micronutrientes nas culturas otimizam a produção através da fixação biológica de nitrogênio, aumento do desempenho do sistema radicular e parte aérea, maior absorção de nutrientes e água e consequente favorecimento da expressão do seu potencial genético. São alternativas econômicas e sustentáveis para a disponibilidade de nitrogênio na cultura do milho (*Zea mays* L.) visando a qualidade e rendimento das plantas e grãos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado ao uso de reguladores de crescimento e micronutrientes sobre a produtividade e caracteres agrônômicos da cultura do milho. O ensaio foi conduzido na fazenda Floresta do Lobo, no município de Uberlândia, MG. O híbrido utilizado no experimento foi o Supremo[®] VIP. Os tratamentos consistem na aplicação associada ou não de *Azospirillum*, reguladores de crescimento vegetal e micronutrientes, as doses recebidas foram de 300, 250 e 150 mL ha⁻¹ respectivamente, via aplicação foliar no estágio fenológico V₄. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados apresentando seis tratamentos e quatro repetições. Os caracteres avaliados foram diâmetro do colmo; altura da planta; da espiga; da última folha (base) e da última folha estendida; área foliar; massa fresca e seca da parte aérea; teor de nitrogênio foliar; teor de clorofila; força de quebraimento de colmo; força de arranquio da planta; estande final; densidade e massa seca do colmo; e produtividade. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5%). Não foi observado incremento significativo nas variáveis avaliadas.

Palavras-chave: *Zea mays* L., estimulante, micronutrientes, produtividade.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades químicas do solo – Uberlândia, 2017. (PÁGINA 20)

Tabela 2. Descrição dos tratamentos aplicados em V₄ - Uberlândia, 2017. (PÁGINA 22)

Tabela 3. Resumo da análise de variância dos dados das características analisadas obtidos no ensaio da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado a reguladores de crescimento e micronutrientes na cultura do milho. Uberlândia, 2017. (PÁGINA 29)

Tabela 4. Médias do diâmetro dos colmos em estádio V₈, V₁₂, R₁ e R₆ em função da presença ou ausência dos *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 32)

Tabela 5. Médias da altura da última folha e altura da última folha estendida avaliadas no estádio V₈ e V₁₂, em função da presença ou ausência do *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 32)

Tabela 6. Médias da altura das plantas e das espigas avaliadas no estádio R₆, em função da aplicação do *Azospirillum brasilense* associado a reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 33)

Tabela 7. Médias da área foliar nos estádio V₈ e V₁₂ em função da aplicação do *Azospirillum brasilense* associado a reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 34)

Tabela 8. Médias da matéria seca e matéria fresca da parte aérea em estádio V₈, V₁₂ e R₁ em função da aplicação do *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 35)

Tabela 9. Médias do teor de nitrogênio foliar no estádio V₈, V₁₂ e R₁ em função da aplicação do *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 35)

Tabela 10. Médias do teor de clorofila foliar (ICF) nos estádios V₁₂ e R₁ em função da aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 36)

Tabela 11. Médias da matéria fresca e seca, e densidade de dez colmos no estádio R₆ em função da aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 37)

Tabela 12. Médias da força necessária ao quebramento do colmo avaliadas em estádio R₆, em função dos tratamentos. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 38)

Tabela 13. Médias da resistência das raízes ao arranquio avaliadas em estágio R₆, em função dos tratamentos. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 39)

Tabela 14. Médias do estande final avaliadas no estágio R₆, em função dos tratamentos. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 39)

Tabela 15. Produtividade média da cultura do milho em função da aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017. (PÁGINA 40)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Precipitação pluviométrica e temperaturas máxima e mínima durante o período de condução dos experimentos (28/11/2015 a 18/04/2016) em Uberlândia – MG. Fonte: Laboratório de Climatologia e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Uberlândia.
(PÁGINA 21)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Aspectos gerais da cultura do milho	12
2.2 Potencial do Azospirillum na cultura do milho	13
2.3 Reguladores de crescimento na cultura do milho	15
2.4 Micronutrientes na cultura do milho.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Tratamentos, delineamento e condução do experimento.....	21
3.2 Avaliação Experimental.....	23
3.2.1 Diâmetro do colmo	23
3.2.2 Altura da última folha (base), da última folha estendida, da planta e espiga	23
3.2.3 Área foliar	24
3.2.4 Massas fresca e seca da parte aérea	24
3.2.5 Clorofila	24
3.2.6 Teor de Nitrogênio foliar	25
3.2.7 Estande final	25
3.2.8 Resistência do colmo ao quebramento.....	25
3.2.9 Resistência das raízes ao arranquio da planta	25
3.2.10 Densidade de colmo.....	26
3.2.11 Massas seca do colmo.....	26
3.2.12 Produtividade	26
3.3 Análise estatística	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Diâmetro de colmo.....	31
4.2 Altura da última folha (base), da última folha estendida, da planta e da espiga.....	32
4.3 Área foliar	33
4.4 Matéria seca e matéria fresca da parte aérea.....	34
4.5 Teor de Nitrogênio foliar	35
4.6 Clorofila	36
4.7 Matéria fresca e seca do colmo; e Densidade de colmo	37
4.8 Resistência do colmo ao quebramento.....	38

4.9 Resistência das raízes ao arranquio da planta	38
4.10 Estande final	39
4.11 Produtividade	39
5 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42

INTRODUÇÃO

O futuro da agricultura está predestinado a assegurar a alimentação da crescente população mundial com uma menor área de produção. A inexistência de um potencial para a expansão de áreas de terras agricultáveis resulta na busca crescente pelo aumento da produtividade das culturas, visando não só o aspecto quantitativo, mas também a qualidade deste produto, a viabilidade do custo dos investimentos e por fim um programa ecologicamente correto e socialmente justo.

Em função desta busca é que o Brasil se destaca como um dos principais países produtores de milho, considerado o terceiro maior produtor mundial (USDA, 2017), em uma área de aproximadamente de 16 milhões de hectares no ano agrícola 2015/2016 com uma produção de cerca de 67 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2016). O milho é um cereal que apresenta relevante importância socioeconômica e de extensa diversidade de uso, podendo ser empregado em grande número de produtos.

Para atingir altas produtividades, a cultura interage o potencial genético da semente, as condições edafoclimáticas e a disponibilidade tanto de macronutrientes quanto de micronutrientes. Nesse caso, o nitrogênio (N) caracteriza-se como o mais exigido em quantidade, e ainda possui recomendações de adubação e manejo mais complexas (FORNASIERI FILHO, 2007; FARINELLI et al., 2010), o qual geralmente onera o custo da produção.

De acordo com Fancelli (2000), para a planta de milho produzir uma tonelada de grãos, ela extrai aproximadamente 18 a 20 kg de nitrogênio do solo. Diante deste cenário, os usos de alternativas que visam diminuir o custo da produção de alimentos ganham força no setor agrícola, como a fixação biológica de nitrogênio (FBN), o uso de reguladores de crescimento e a aplicação de micronutrientes.

Os reguladores de crescimento são substâncias sintetizadas que, aplicadas exogenamente nas plantas, possuem ações similares à dos grupos de fitormônios conhecidos como, por exemplo, auxinas, citocininas e giberelinas (VIEIRA; CASTRO, 2002).

Estas substâncias promovem alterações nos processos fisiológicos e estruturais da planta, aumentando o desempenho do sistema radicular e, conseqüentemente, favorecendo a expressão do seu potencial genético (ONO et al., 1999) podendo assim ocorrer incremento na absorção de água e nitrogênio.

A FBN aparece como alternativa de acentuada importância no suprimento de nitrogênio necessário à cultura (MÜLLER, 2013). A inoculação com *Azospirillum*, microrganismos capazes de fixar o N atmosférico em associação com gramíneas, segundo Okon e Vanderleyden (1997) modifica a morfologia do sistema radicular pela produção de substâncias promotoras de crescimento.

Desta maneira, as substâncias promotoras de crescimento aumentam não apenas o número de radículas, mas também o diâmetro das raízes laterais e adventícias, ampliando assim, o volume do solo explorado e promovendo, conseqüentemente, ganhos em rendimento.

De acordo com Justus von Liebig (1824) “o crescimento da cultura é determinado pelo elemento que estiver em menor disponibilidade”, o que reforça a oferta de níveis adequados dos micronutrientes, como o molibdênio (Mo).

O molibdênio atua na absorção de nitrogênio pelas plantas, por ser componente da enzima redutase de nitrato, que é o catalisador da reação em que o nitrato (NO_3^-) é reduzido a nitrito (NO_2^-) (MARSCHNER, 1995; EPSTEIN; BLOOM, 2006) sendo este o primeiro passo para a incorporação do N em proteínas (MARSCHNER, 1995).

Destaca-se também o comportamento do nutriente benéfico cobalto, que é parte do complexo enzimático – cobalamina (vitamina B_{12} e metabólitos relacionados) – que funciona nas bactérias que fixam nitrogênio (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Além disso, este micronutriente participa da síntese do ácido chiquímico, um composto fundamental para diversas rotas metabólicas, que leva à formação de compostos envolvidos na defesa da planta contra pragas e doenças (YAMADA; CASTRO, 2007).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado ao uso de reguladores de crescimento e micronutrientes na cultura do milho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cultura do milho

O milho é explorado e domesticado desde os primórdios da agricultura, e está presente na cultura de importantes civilizações, como a dos Astecas, Maias e Incas. Atualmente, destaca-se em ambos os mercados internacional e nacional, possuindo neste último, papel fundamental no manejo de rotação de cultura e possibilidade de incorporação em diferentes sistemas de produção.

Segundo Duarte et al. (2011) deve-se analisar o milho sob a ótica das cadeias produtivas ou dos sistemas agroindustriais, o qual possui versatilidade em possibilidades de uso que vão desde a alimentação humana e animal à produção de bebidas, cosméticos, combustíveis, entre outros. Na cadeia produtiva de suínos e aves, é consumido aproximadamente 70% do milho produzido no mundo e entre 70 e 80% do milho produzido no Brasil.

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea botanicamente classificada como reino Plantae, divisão Anthophyta, classe Monocotyledonea, ordem Poales, família Poaceae, gênero *Zea*, espécie *Zea mays*. Possivelmente é originário do Continente Americano, pois é onde se encontram os seus parentes selvagens mais próximos (tiosinto e *Tripsacum*). É uma planta fotossinteticamente eficiente (C4), alógoma, monoica, apresenta uma inflorescência masculina (pendão) e uma feminina (espiga) em diferentes locais da planta, protândrica, com $2n=2x=20$ cromossomos (GALVÃO et al., 2015).

Segundo Magalhães et al. (2002), todas as plantas de milho seguem um mesmo padrão de desenvolvimento, porém, o intervalo de tempo específico entre os estádios e o número total de folhas desenvolvidas podem variar entre cultivares, ano agrícola, data de plantio e local. Ritchie et al. (1993) sugere uma escala fenológica em que o desenvolvimento da planta de milho se divide em estádios vegetativos e reprodutivo. Cada estágio da fase vegetativa é definido de acordo com a formação visível do colar na inserção da bainha da folha com o colmo. A fase reprodutiva é iniciada quando os estilos-estigmas se apresentam visíveis para fora das espigas e finaliza no ponto de maturidade fisiológica (MAGALHÃES, 2002; GALVÃO et al., 2015). Entre os estádios V_4 e V_6 iniciam-se as diferenciações florais masculina (pendão) e feminina (espiga), definindo-se o potencial produtivo da planta.

O milho possui três sistemas radiculares. São eles as raízes seminais, definitivas e suporte. As raízes seminais iniciam seu crescimento a partir da semente, e até o estágio V_3 é o grande absorvedor de água e nutrientes. A partir de V_3 o sistema radicular definitivo ou fasciculado toma-se o principal responsável pela nutrição da planta. Posteriormente, desenvolvem-se as raízes adventícias, a partir dos nós acima do solo, que auxiliam na sustentação da planta, absorção de água e de nutrientes. A maior parte das raízes encontra-se na camada superficial do solo (0-30 cm). O colmo da planta de milho é dividido em nós e entrenós, no qual as folhas estão alternadamente inseridas. O grão do milho é do tipo cariopse e seu peso individual varia, em média, de 0,25 g a 0,3 g (MAGALHÃES, 1994; GALVÃO et al., 2015).

Nas condições em que o milho é explorado no Brasil, o ciclo dos diversos cultivares varia entre 105 e 180 dias, período compreendido entre a semeadura e a colheita. Segundo Magalhães et al. (2002) a cultura do milho, para expressar seu potencial produtivo, necessita de em média 600 mm de precipitação e temperaturas entre 25 e 30 °C.

Há vários fatores que limitam a produtividade do milho, como doenças, pragas, déficit hídrico, disponibilidade e assimilação de nutrientes. Em relação à fertilidade, dentre todas as culturas o milho é o mais exigente em fertilizantes, em especial os nitrogenados (FERNANDES et al., 2008). Neste sentido, intensificam os estudos com técnicas alternativas e promissoras para a eficácia da incorporação do nitrogênio nas plantas de milho, refletindo em uma estratégia econômica e de menor impacto ambiental.

2.2 Potencial do *Azospirillum* na cultura do milho

O nitrogênio (N) é um nutriente essencial que aumenta a produção de grãos na cultura do milho e o seu manejo adequado torna-se indispensável como proposta de uma agricultura sustentável (MORAIS et al., 2015). É exigido em grandes quantidades e desempenha diversas funções vitais nas plantas, por exemplo, é ativador enzimático, encontra-se em nucleotídeos e aminoácidos que formam a estrutura de ácidos nucleicos e das proteínas, respectivamente (TAIZ; ZEIGER, 2013; FARIA, 2014).

O nitrogênio gasoso (N_2) compõe 78% da atmosfera terrestre. A fixação de nitrogênio requer a quebra da ligação tripla covalente de excepcional estabilidade do N_2 . Contudo, os gases atmosféricos também se difundem para o espaço poroso do solo e o N_2 consegue ser aproveitado por alguns microrganismos, principalmente bactérias que ali habitam, graças à

ação de enzima chamada dinitrogenase, que é capaz de romper a tripla ligação do N_2 e reduzi-lo a NH_3 , a mesma forma obtida no processo industrial (HUNGRIA et al., 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013).

O processo industrial exige elevadas temperaturas (cerca de 200 °C) e alta pressão (cerca de 200 atm), em que o N_2 combina com o hidrogênio formando amônia, caracterizando um processo energeticamente caro, sendo ponto de partida para a fabricação de fertilizantes nitrogenados, os quais elevam o custo da produção. Os processos naturais advêm de relâmpagos e reações fotoquímicas, responsáveis por 10% do nitrogênio fixado, que reagem formando ácido nítrico (HNO_3), precipitados posteriormente sobre a Terra junto à chuva. E os 90% restantes são de responsabilidade da fixação biológica do nitrogênio (FBN), em que bactérias ou algas marinhas fixam o N_2 em amônia (NH_3), que dissolve em água e forma amônio (NH_4^+) (TAIZ; ZEIGER, 2013). A fixação de nitrogênio pelas bactérias ocorre em ambiente natural, temperatura ambiente e seu crescimento ideal varia numa faixa de temperatura entre 28 e 41 °C (ECKERT et al., 2001) ocorrendo em níveis bem menores de energia, consumindo os açúcares da planta, mas que são compensados pelo aporte de N fornecido ao sistema (ALVES, 2007).

Essas bactérias, também denominadas como diazotróficas ou fixadoras de N_2 , se associam a diversas espécies de plantas em diferentes graus de especificidade, levando à classificação como bactérias associativas, endofíticas ou simbióticas (HUNGRIA et al., 2011).

Dentre elas as bactérias do gênero *Azospirillum*, que são classificadas como bactérias endofíticas facultativas, são comumente encontradas colonizando raízes de gramíneas. E principalmente a espécie *Azospirillum brasilense* tem sido usada como inoculante em diversas culturas. Segundo Döbereiner et al. (1995), *Azospirillum* spp. pode ser caracterizada como bactéria Gram-negativa, em forma de bastonete, com movimento ativo, apresentando diâmetro entre 0,8 e 2 μm e 2 a 4 μm de comprimento. Ela colabora para a nutrição da planta, seja através do processo de FBN ou da produção de hormônios vegetais, que atuam no aumento do sistema radicular das plantas. A inoculação com *Azospirillum* modifica a morfologia do sistema radicular pela produção de substâncias promotoras de crescimento, aumentando não apenas o número de radículas, mas também o diâmetro das raízes laterais e adventícias, ampliando assim, o volume de solo explorado e promovendo, consequentemente, ganhos em rendimentos favorecendo a absorção de água e nutrientes (OKON; VANDERLEYDEN, 1997; MÜLLER, 2013).

As sínteses de hormônio estão associadas principalmente com a produção de auxinas (ácido 3-indolacético), giberelinas e citocininas (FIGUEIREDO et al., 2008) e também de etileno, podendo agir como solubizador de fosfato ou acelerador do processo de mineralização (PERSELLHO-CARTINEAUX et al., 2003; SÁ JÚNIOR, 2012).

É importante salientar que o processo de fixação biológica por essas bactérias em associação com gramíneas consegue suprir apenas parcialmente as necessidades das plantas em nitrogênio (HUNGRIA et al., 2011).

Cavallet et al. (2000) na análise da produtividade média de milho com inoculação de *Azospirillum brasilense* encontraram a produtividade de 6067 kg ha⁻¹ e, onde não foi inoculado, foram produzidos 5211 kg ha⁻¹ obtendo-se, portanto, aumento significativo da produtividade, na ordem de 17%. A inoculação também aumentou o comprimento médio das espigas de milho, de 13,6 para 14,4 cm, ou seja, aumento médio de 6%. Hungria et al. (2010) verificaram que a inoculação de *Azospirillum brasilense* promoveu aumento na produtividade de grãos de milho de 26% e Lana et al. (2012) verificaram aumento de 15,4%.

Segundo Morais (2012), o principal entrave à introdução do *Azospirillum brasilense* na cultura do milho é a imprevisibilidade e inconsistência dos resultados de pesquisa, os quais podem variar de acordo com o genótipo, condições edafoclimáticas e metodologia de condução do ensaio.

2.3 Reguladores de crescimento na cultura do milho

Outra tecnologia que vem sendo empregada na agricultura como alternativa para um menor custo de produção é o uso dos reguladores de crescimento, conhecidos também pelo termo “reguladores vegetais”, que substitui o termo hormônios vegetais quando se refere aos produtos químicos não naturais da planta (WEAVER, 1982). A utilização de reguladores vegetais é considerada como estratégia agrônômica promissora para o incremento da produtividade (MARTINS et al., 2014).

O crescimento e desenvolvimento das plantas são regulados por uma série de hormônios vegetais, cujas biossíntese e degradação se produzem em resposta a uma complexa integração de fatores fisiológicos, metabólicos e ambientais (DOURADO NETO et al., 2007). Isto só é possível pela eficiente comunicação entre células, tecidos e órgãos, que dependem de sinais químicos de uma parte da planta para a outra (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Segundo Vieira e Castro (2002), os reguladores de crescimento são biorreguladores combinados (dois ou mais reguladores vegetais) ou são biorreguladores associados a outras substâncias, tais como aminoácidos, nutrientes e vitaminas. As auxinas, giberelinas e citocininas estão entre os principais hormônios vegetais de uso exógeno (TAIZ; ZEIGER, 2009).

O uso de reguladores de crescimento na cultura do milho pode contribuir para a melhoria da relação entre raiz e parte aérea, para a maior concentração de reservas do colmo, assim como para aumentar a eficiência do processo de translocação de fotoassimilados para os grãos, promovendo o aumento da produtividade (FANCELLI, 2010). Os reguladores de crescimento apresentam funções de ativadores do metabolismo celular, reativam processos fisiológicos nas diferentes fases de desenvolvimento, estimulando o crescimento radicular e qualificando o produto final (SILVA, 2010). De acordo com Castro e Vieira (2003) dependendo da composição, concentração e proporção das substâncias desses compostos, há um estímulo ao crescimento vegetal através de uma maior divisão celular, alongação celular e diferenciação celular e, dessa forma, aumenta a capacidade de absorção de nutrientes e água, refletindo diretamente no desenvolvimento (germinação de sementes, crescimento e desenvolvimento, floração, frutificação, senescência) e na produtividade das culturas.

As formas de aplicação dos reguladores de crescimento também podem interferir no aproveitamento destes hormônios pela cultura. Quando os reguladores de crescimento são aplicados em sementes ou início do desenvolvimento, promovem maior crescimento radicular, o que possibilita às plantas maior resistência a estresses abióticos, bióticos e nutricionais, consequentemente, aumento na produção de grãos (DOURADO NETO et al., 2014).

A auxina foi o primeiro hormônio de crescimento a ser estudado, em que muitos trabalhos pioneiros foram focados no mecanismo de expansão celular e os benefícios proporcionados por ele. Na década de 1930, o ácido indol-3-acético (AIA) foi identificado como a principal auxina natural nas plantas, porém a espécie, a idade da planta, a estação do ano e as condições de desenvolvimento da planta, determinam outras auxinas naturais que podem ser encontradas como, por exemplo, o ácido indolil-3-butírico (AIB).

As auxinas são importantes reguladores de crescimento e desenvolvimento vegetal. As sínteses ocorrem principalmente nos meristemas apicais dos caules e folhas jovens e meristemas apicais das raízes. Este hormônio participa na indução de raízes adventícias e inibição da abscisão foliar (TAIZ; ZEIGER, 2013) que retarda a senescência foliar na presença da citocinina, fazendo com que o milho mantenha suas folhas metabolicamente

ativas por maior período no campo, mesmo depois da maturidade fisiológica da planta (RAVEN et al. 2007).

As citocininas estão relacionadas à intensa divisão celular ou citocinese, e encontram-se em tecidos de intensa divisão celular como nas sementes, ápices das raízes, folhas e frutos. Elas possuem a propriedade de estimular ou inibir vários processos fisiológicos, metabólicos, bioquímicos e de desenvolvimento quando submetidas a plantas superiores, como a senescência foliar, mobilização de nutrientes, dominância apical, formação e atividade dos meristemas apicais, desenvolvimento floral, germinação de sementes e a quebra de dormência de gemas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

As giberelinas promovem a divisão e o alongamento celular, além de estar presente de forma determinante na atuação do processo de germinação de sementes (RAVEN et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2004). A aplicação de giberilina na cultura do milho, durante o estágio vegetativo, resulta em maior desenvolvimento da parte aérea, sem afetar a produção de massa seca e os rendimentos de grãos (VIEIRA, 1999).

Segundo Dourado Neto et al. (2007) estudando o regulador STIMULATE[®] (citocinina + ácido indol-butyrico + ácido giberélico) em doses que variam de 25 a 200 ml e com três modos de aplicações distintas (inoculação de sementes, pulverização dirigida na linha do plantio no momento da semeadura e pulverização foliar em V₂) proporcionaram aumento no diâmetro dos colmos das plantas de milho e aumento no rendimento da cultura que variou de 2,56 a 10,56%. Os efeitos dos reguladores de crescimento, bem como doses e formas de aplicação são fatores que podem afetar a produtividade das culturas (DOURADO NETO et al., 2014).

2.4 Micronutrientes na cultura do milho

O suprimento adequado de macro e micronutrientes é fundamental para a total expressão do potencial genético dos atuais híbridos de milho. Destaca-se dentre os micronutrientes, o molibdênio (Mo), e dentre os nutrientes benéficos, o cobalto (Co), ambos ainda muito pouco estudados.

Coelho et al. (2002) afirmam que para se atingir uma produtividade de 12 t ha⁻¹ o milho exige 12 g ha⁻¹ de molibdênio. O molibdênio, micronutriente essencial, exerce papel indispensável na assimilação do nitrato absorvido pelas plantas, atuando ao nível da redutase

do nitrato. Portanto, qualquer deficiência do elemento pode comprometer o metabolismo do nitrogênio, diminuindo o rendimento das culturas (FERREIRA et al., 2007).

Segundo Marschener (1995), a deficiência de molibdênio é frequentemente observada em milho desenvolvido em solos minerais com grande quantidade de óxidos hidratados de ferro reativos e, portanto, com alta capacidade para adsorver íons molibdato (MoO_4^{2-}). Tanner (1976), em experimentos em casa de vegetação no Zimbábue, concluiu que, para alguns solos do país, a deficiência do molibdênio é o principal fator limitante no desenvolvimento do milho. A faixa crítica de concentração de molibdênio no milho é de 0,1 a 0,2 mg kg^{-1} (DIOS; ROYER, 1965).

Cunha (2001) observou que com a aplicação via foliar de molibdênio aos 45 dias após a emergência da cultura ocorreu um aumento do teor de proteínas nos grãos. Segundo Teixeira (2006), a aplicação de molibdênio não implica em maiores produtividades, mas influencia significativamente a altura de plantas. Já Pereira et al. (1999) verificaram que a adubação molíbdica no milho resultou em um aumento máximo médio da produção em 6,7% no teor de proteína nos grãos. Em situação semelhante Ferreira et al. (2001) verificaram aumento em 3% no teor de proteína nos grãos.

Em relação ao cobalto, para a cultura do milho no Brasil existem poucos relatos. O cobalto é considerado um nutriente benéfico que contribui para ativação enzimática em rotas metabólicas secundárias, pois juntamente com o manganês, faz parte da síntese do ácido chiquímico, que tem como produto final o triptofano que resulta em auxina (AIA), auxiliando o crescimento e desenvolvimento das raízes e novas brotações; a fenilalanina e tirosina que produzem compostos fenólicos, como lignina, fitoalexinas, tanino, fenólicos alelopáticos, que contribuem com a defesa contra pragas e doenças (CASTRO, 2007).

Na assimilação de amônio, o cobalto é um dos cátions bivalentes (junto com Mn e Mg) que ativa a enzima Glutamina sintetase (GS), sendo assim, um íon pode substituir o outro, mas há sinergia na presença de Co e Mg (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Segundo os mesmos autores, o cobalto é parte do complexo enzimático – cobalamina (vitamina B_{12} e metabólitos relacionados) – que funcionam nos bacterióides que fixam nitrogênio.

Jaleel et al. (2009) observaram que a aplicação de cobalto na cultura do milho resultou em incremento no número de grãos por planta, no crescimento radicular e no teor de proteína dos grãos. Gad et al. (2012), registraram aumento na massa seca radicular, número de grãos por planta e produtividade após aplicação foliar de sulfato de cobalto em plantas de soja e milho.

Segundo Fancelli e Dourado Neto (2000), a aplicação de nutrientes na cultura do milho deve ser feita no estágio fenológico V₄ da cultura, pois a partir deste momento há o aumento de absorção de nutrientes, os quais devem estar disponíveis para a necessidade da planta não resultando negativamente na produtividade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado na fazenda Floresta do Lobo, localizada nas margens da rodovia BR-050, Km 93, no município de Uberlândia – MG durante o ano agrícola 2015/2016 nos meses de novembro a abril, em condições de sequeiro. A área apresenta as coordenadas geográficas 19°04'39''S e 48°07'49''W, altitude média de 961 m. O clima da região, de acordo com a classificação de Köppen, é considerado tropical de altitude (Aw), apresentando verões úmidos e quentes e estação seca e amena no inverno.

O solo do local é classificado como Latossolo Vermelho, originalmente sob vegetação de cerrado. Para análise de solo foram retiradas da camada 0-20 cm amostras simples, as quais foram homogeneizadas e enviadas para o Laboratório de Análises de Solos (ICIAG – UFU). O resultado da análise de solo é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Propriedades químicas do solo – Uberlândia, 2017.

Propriedades	Amostras (0–20 cm)
pH (H ₂ O)	6,4
P me ^h -1 (mg dm ⁻³)	15,4
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,13
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	5,4
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,8
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0
H + Al (cmol _c dm ⁻³)	1,8
M.O. (dag kg ⁻¹)	8,6
SB (cmol _c dm ⁻³)	6,33
t (cmol _c dm ⁻³)	6,33
T (cmol _c dm ⁻³)	8,13
V (%)	78
m (%)	0

Os valores de precipitação pluviométrica e temperaturas máxima e mínima durante a condução do experimento estão apresentados na Figura 1.

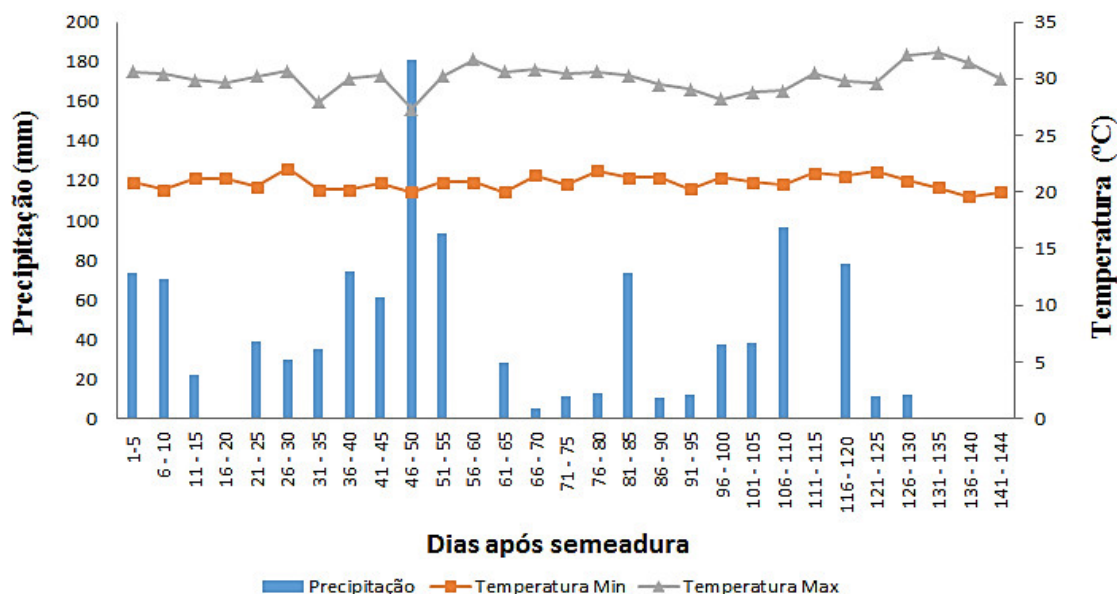


Figura 1. Precipitação pluviométrica e temperaturas máxima e mínima durante o período de condução dos experimentos (28/11/2015 a 18/04/2016) em Uberlândia – MG. Fonte: Laboratório de Climatologia e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Uberlândia.

3.1 Tratamentos, delineamento e condução do experimento

O ensaio foi delineado em blocos casualizados (DBC), com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 parcelas. A parcela experimental foi de seis linhas de 14,2 m de comprimento com espaçamento de 0,6 m entre linhas apresentando área de 51,12 m² e perfazendo uma área experimental de 1226,88 m². A parcela útil do experimento foi caracterizada pelas quatro linhas centrais das parcelas apresentando área útil de 34,08 m², com intuito de diminuir a interferência externa. Os carreadores eram de 0,8 m.

A semeadura do experimento foi mecânica e direta, na palhada de girassol (*Helianthus annuus* L.) e realizada no dia 28 de novembro de 2015, utilizando o híbrido Supremo[®] VIP, com espaçamento entre linhas de 0,6 m e 4,2 sementes por metro linear e população final média de 72.000 plantas ha⁻¹.

Os tratamentos consistiram na aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes (Tabela 2) via foliar no estágio vegetativo V₄ do milho (quatro folhas completamente expandidas), utilizando-se pulverizador costal pressurizado por CO₂, vazão de 200 L ha⁻¹, com barra de 3 m e seis bicos de aplicação espaçados em 0,5 m, pontas de pulverização tipo leque simples 110-02, aplicados em condições ideais.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos aplicados em V₄ - Uberlândia, 2017.

Tratamentos	Dose do produto (mL ha ⁻¹)
T1 – Testemunha	0
T2 – <i>Azospirillum brasilense</i>	300
T3 – Auxina+ Giberilina + Citocinina	250
T4 – Cobalto – Molibdênio	150
T5 – <i>Azospirillum brasilense</i> + Auxina+ Giberilina + Citocinina	300 + 250
T6 – <i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto – Molibdênio	300 + 150

O regulador de crescimento, produto comercial STIMULATE[®], aplicado na dose de 250 mL ha⁻¹ correspondente a 0,0125 g L⁻¹ de giberilina e auxina e 0,0225 g L⁻¹ de citocinina. A inoculação do *Azospirillum* foi realizado utilizando o produto comercial MASTERFIX[®] L Gramíneas. Este inoculante contém estirpes da bactéria *Azospirillum brasilense* em concentração mínima de 2x10⁸ células viáveis mL⁻¹. A aplicação dos micronutrientes foi realizada com o produto comercial Co-Mo[®] Platinum que contém 15% de molibdênio e 1,5% de cobalto.

A adubação de semeadura correspondeu à aplicação de 500 kg ha⁻¹ do formulado NPK 08-20-20 e em cobertura no estágio V₄, foi aplicado 500 kg ha⁻¹ do formulado NPK 20-00-20. Todos os tratos culturais foram realizados para que o híbrido expressasse o seu máximo potencial produtivo.

Para o controle de plantas infestantes em dessecação foi realizada a aplicação de glifosato potássico (620 g. i. a. L⁻¹) na dose 150 mL ha⁻¹. Concomitantemente aplicaram-se 150 mL ha⁻¹ de clorpirifós + 250 mL ha⁻¹ de tiametoxam (141 g. i. a. L⁻¹) + Lambda-cialotrina (106 g. i. a. L⁻¹) para controle de insetos-pragas. Em pós-emergência, nos estádios entre V₄ e V₅, aplicou-se 350 mL ha⁻¹ de atrazina + 200 mL ha⁻¹ de nicosulfuron + 200 mL ha⁻¹ de mesotriona para o controle de plantas infestantes, e para o controle da *Spodoptera frugiperda*, aplicou-se Tiametoxam (141 g. i. a. L⁻¹) + Lambda-cialotrina (106 g. i. a. L⁻¹) na dose 250 mL ha⁻¹; + Clorantirniliprole (100 g. i. a. L⁻¹) + Lambda-cialotrina (50 g. i. a. L⁻¹) na dose 150 mL ha⁻¹; + Lufenurum na dose 300 mL ha⁻¹; + Espinosade na dose 100 mL ha⁻¹. As aplicações foram mecanizadas com entrada de máquinas na área em condições ambientais adequadas.

Quando a cultura se encontrava nos estádios V_T e R₂ foi realizada aplicações aéreas, em condições ideais de campo. Houve a aplicação de fungicidas para o controle de doenças com azoxistrobina + ciproconazol na dose de 300 mL ha⁻¹ (fungicida sistêmico) + propiconazol (fungicida sistêmico do grupo químico triazol) na dose de 400 mL ha⁻¹, óleo

mineral (adjuvante do grupo dos hidrocarbonetos) na dose de 600 mL ha⁻¹ + doses de 200 e 150 mL ha⁻¹ de fertilizantes foliares que induz a produção de fitoalexinas e colaboram com a nutrição da planta, respectivamente.

3.2 Avaliação Experimental

No presente ensaio avaliaram-se as características diâmetro do colmo (mm), altura da planta, da espiga, da última folha (base) e da última folha estendida (cm), área foliar (cm²), massa fresca e seca da parte aérea (g), teor de nitrogênio foliar (g kg⁻¹), teor de clorofila (ICF), força de quebraamento de colmo (kgf), força de arranquio da planta (kgf), estande (plantas ha⁻¹), densidade (g/cm³) e massa seca do colmo (g) e produtividade de grãos (kg ha⁻¹).

3.2.1 Diâmetro do colmo

A avaliação do diâmetro do colmo foi realizada com paquímetro digital nos estádios V₈, V₁₂, R₁ e anteriormente à colheita (R₆). Determinou-se o maior diâmetro da região mediana do segundo internódio de 10 plantas, as quais se apresentavam nas duas linhas centrais da parcela, sendo cinco plantas da linha três e cinco plantas da linha quatro. As cinco primeiras plantas foram desprezadas, iniciando a medição a partir da sexta planta.

3.2.2 Altura da última folha (base), da última folha estendida, da planta e espiga

Com o auxílio de uma régua graduada a altura da última folha foi medida da base da planta até a base (colar) da última folha plenamente expandida, nos estádios de desenvolvimento V₈ e V₁₂ e R₁. Posteriormente essa última folha era estendida e media-se a base da planta, rente ao solo, até o extremo ou ponta da folha. Em pré-colheita, a medição da altura da planta foi realizada da base da planta, rente ao solo, até a inserção da primeira ramificação do pendão. A altura da espiga foi medida da base da planta até a inserção da espiga principal. Em todas as avaliações foram medidas 10 plantas das duas linhas centrais da parcela desconsiderando as cinco plantas iniciais das linhas.

3.2.3 Área foliar

A medição das folhas foi realizada nos estádios V_8 , V_{12} e R_1 , nas quatro linhas da parcela útil. Em cada uma das linhas retirou-se a última folha expandida de cinco plantas contadas 5 m após o carreador. Em laboratório, com auxílio de fita métrica determinou-se o comprimento e largura das folhas, expressando em m^2 a expressão $AF = \text{Comprimento} \times \text{Largura} \times 0,75$; em que 0,75 é o fator de correção visto que as folhas não são retangulares (BORRÁS et al., 2003).

3.2.4 Massas fresca e seca da parte aérea

Para a determinação de matéria fresca e seca, foram utilizadas quatro amostras contendo cinco folhas em cada. Para tanto, coletou-se a última folha expandida das cinco plantas localizadas em cada uma das quatro linhas centrais da parcela e contadas no estádio V_8 após os 5 m do carreador. Em V_{12} a partir da primeira planta após as cinco plantas cortadas anteriormente e em R_1 as plantas seguintes às cortadas, recolhendo a folha +3 (terceira folha abaixo do pendão). Para a massa fresca, as amostras foram pesadas em balança de precisão a campo. Posteriormente, foram acondicionadas separadamente em sacos de papel e submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 65-70°C por um período médio de 78 horas até peso constante, para a determinação da massa seca.

3.2.5 Clorofila

O teor relativo de clorofila na folha foi determinado utilizando-se um clorofilômetro eletrônico, marca clorofiLOG modelo CFL 1030. As leituras foram realizadas no terço superior da folha imediatamente abaixo da espiga de 20 plantas, divididas entre as quatro linhas da parcela útil (três leituras por planta), nos estádios V_{12} e R_1 . A unidade de mensuração, denominada Índice de Clorofila Falker (ICF), é analisada através da relação de absorção de três faixas de frequências de luz, levando em consideração a presença de clorofila dos tipos A e B (FALKER, 2008).

3.2.6 Teor de Nitrogênio foliar

Para a quantificação de nitrogênio foram encaminhadas 24 amostras secas para laboratório particular de análise de tecido vegetal, contendo oito folhas homogeneizadas e unificadas por parcela. O teor de nitrogênio foi determinado nos estádios V₈, V₁₂ e R₁.

3.2.7 Estande final

Para determinação de estande efetuou-se a contagem de todas as plantas das quatro linhas centrais das parcelas, anteriormente à colheita (R₆). Posteriormente o estande final foi transformado em número de plantas ha⁻¹.

3.2.8 Resistência do colmo ao quebramento

De acordo com o método usado por Gomes et al. (2010), a mensuração da força necessária para a ruptura do colmo se dá com a intervenção de uma corda na altura da espiga principal e a aplicação de uma força transversal. Ao romper-se o colmo, o dinamômetro registra a força necessária ao quebramento. A análise foi realizada no ponto de colheita, em 10 plantas da 4ª linha (da esquerda para a direita) da parcela com o uso de “inclinômetro” (I-AMBLSG), equipado por um dinamômetro e uma corda.

3.2.9 Resistência das raízes ao arranquio da planta

Para determinar a força necessária ao arranquio da planta, foi utilizado o aparelho denominado arrancômetro, composto por uma base, uma manivela, um sistema de roldanas, uma garra e um dinamômetro. Corta-se a planta em média a 30 cm de altura e acopla-se uma garra entre o segundo e terceiro nó do colmo, que é tracionada com o auxílio de um cabo ligado ao dinamômetro, registrando a maior força (kgf) para arrancar a planta do solo. A metodologia refere-se á força vertical distribuída pelo sistema de roldanas necessário para o arranquio em quatro partes e a quantificação de uma dessas partes pelo dinamômetro. Para o cálculo da força total necessária ao arranquio da planta, aplicou-se a equação $F = Fd \times 4$, onde

F é a força total, em kgf e Fd é a força medida pelo dinamômetro, também em kgf (GOMES et al., 2010). A avaliação foi realizada em 10 plantas intercaladas da 3ª linha (da esquerda para a direita) do experimento, desprezando-se as duas primeiras plantas da linha, em ponto de colheita. A avaliação intercalada tem o objetivo de não subestimar os resultados, pois a planta vizinha ao arranquio certamente foi influenciada pelo arranquio da anterior.

3.2.10 Densidade de colmo

Para a avaliação de densidade de colmo, foram cortadas na altura do primeiro entrenó a partir da base da planta 10 plantas entre a 2ª e 5ª linha da parcela. De cada uma dessas plantas, cortou-se um tolete com três entrenós a partir da base, do qual se obteve o seu comprimento, os seus diâmetros maior e menor, e o seu peso. Conforme detalhado por Alvim et al. (2011), considerando o colmo do milho como uma elipse, determinou-se:

$$\text{Área da base} = ab\pi$$

$$\text{Volume} = \text{Área (dm}^2\text{)} \times \text{Comprimento (dm)}$$

$$\text{Densidade do colmo} = \text{Massa (g)} / \text{Volume (dm}^3\text{)}$$

$$\text{Considera-se: } a = \text{raio maior (dm); } b = \text{raio menor (dm); e } \pi = 3,1415927$$

3.2.11 Massas seca do colmo

Os 10 toletes com três entrenós, que foram cortados para a avaliação de densidade de colmo foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 65-70°C até peso constante e determinação de massa seca dos colmos.

3.2.12 Produtividade

A colheita mecânica ocorreu no dia 18 de abril de 2016 com uma colhedora adaptada para colheita de parcelas, que tinha acoplado um sistema de determinação de peso e umidade. As espigas que foram retiradas das plantas utilizadas para análise de densidade do colmo foram adicionadas manualmente na colhedora, durante a colheita. Para determinação da produtividade, o peso foi transformado para kg ha⁻¹, sendo submetido a correção da umidade para 13%.

3.3 Análise estatística

Todos os dados coletados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e suas médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de significância, com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de *Azospirillum brasilense*, associado ou não ao uso de reguladores de crescimento e micronutrientes, não influenciaram nenhuma das características analisadas neste trabalho (Tabela 3).

De acordo com a Figura 1, observa-se que os valores da precipitação pluviométrica e médias da temperaturas, máxima e mínima durante a condução do experimento foram de 1108 mm e 25,5°C, respectivamente. Segundo Magalhães et al. (2002), a cultura do milho necessita aproximadamente de 600 mm de precipitação e oscilação térmica entre 20 e 30°C para expressar seu potencial produtivo, o que evidencia condições favoráveis para o desenvolvimento da cultura durante a condução do ensaio.

Apesar de outros trabalhos citarem benefícios do uso de *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento de plantas (BRACCINI et al., 2012) e produtividade (SÁ JUNIOR, 2012; MORAIS, 2012) de forma semelhante ao uso de reguladores de crescimento (BRACCINI et al., 2012; DOURADO NETO et al., 2014) e micronutrientes (ALVIM et al., 2010), no presente trabalho não obteve resultados positivos.

Segundo Braccini et al. (2012) a utilização de metade da dose de nitrogênio recomendada para a cultura do milho, associada à inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, na dose de 200 mL ha⁻¹ (misturado às sementes) e, associado ao Stimulate® (em aplicação foliar), mostra-se viável agronomicamente. De acordo com Dourado Neto et al. (2014), uso de reguladores de crescimento em milho proporciona aumento do diâmetro do colmo das plantas de milho, número de grãos por fileira e número de grãos por espiga, porém não interfere o rendimento da cultura. Segundo Alvim et al. (2010) quatro aplicações foliares de Co e Mo contribuem para a redução de grãos ardidos, o que interfere na produtividade líquida de forma positiva, sendo o grão ardido o principal responsável pela baixa qualidade dos grãos e sementes de milho, segundo Pereira (1995).

A elevada disponibilidade de N no solo, oriunda de anos de cultivos, mineralização da matéria orgânica, adubação pesada e culturas de sucessão podem ter inibido a ação do *Azospirillum brasilense*, possivelmente sendo suficiente para o pleno desenvolvimento da cultura. Além disto, a forma de inoculação dessas bactérias, variações de ambiente e no solo, características genéticas das plantas e das estirpes, alteram a resposta de espécies de gramíneas à inoculação de bactéria (HUNGRIA, 2011; MORAIS, 2012). Essas inconstâncias em trabalhos já são bastante conhecidas, o que concorda com as suposições de Taiz e Zeiger (2004) que sugere ineficácia do efeito do processo associativo da bactéria com a planta.

Tabela 3. Resumo da análise de variância dos dados das características analisadas obtidos no ensaio da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado a reguladores de crescimento e micronutrientes na cultura do milho. Uberlândia, 2017.

Quadrado médio													
FV	GL	Diâmetro de colmo			Altura da base da folha (base)			Altura da última folha estendida			Altura das plantas		
		V ₈	V ₁₂	R ₁	R ₆	V ₈	V ₁₂	V ₈	V ₁₂	V ₈	V ₁₂	R ₆	R ₆
Tratamentos	5	0,6286 ^{ns}	0,5097 ^{ns}	0,4303 ^{ns}	2,6436 ^{ns}	2,0435 ^{ns}	5,9736 ^{ns}	1,9710 ^{ns}	13,7733 ^{ns}	31,2378	795,8953 ^{ns}		
Bloco	3	1,8021	1,9673	0,2100	2,0352	9,6163	16,5194	35,9092	9,7834	743,2500			
Resíduo	15	0,5686	0,6225	0,8712	2,2371	1,886	8,7801	8,0141	1,39	10,33			
CV(%)		3,20	3,02	3,60	6,31	4,89	2,35	3,14					
FV	GL	Área foliar			Massa fresca da parte aérea			Massa seca da parte aérea					
		R ₆	V ₈	V ₁₂	V ₈	V ₁₂	R ₁	V ₈	V ₁₂	R ₁	V ₁₂	R ₁	R ₁
Tratamentos	5	3,9588 ^{ns}	227,5904 ^{ns}	297,1938 ^{ns}	1,0282 ^{ns}	423,3140 ^{ns}	2,6790 ^{ns}	0,0380 ^{ns}	0,8231 ^{ns}	0,4136 ^{ns}			
Bloco	3	0,4540	240,6891	1098,8648	15,6142	215,1729	18,8257	0,2003	0,9805	0,6766			
Resíduo	15	51,9769	111,0558	522,6375	5,6158	382,7634	3,4944	0,0523	1,0272	0,2878			
CV(%)		4,62	3,27	2,43	5,00	3,91	5,99	3,13	4,59	5,48			
FV	GL	Força de quebraamento do colmo			Teor de nitrogênio foliar			Estande final			Matéria fresca dos colmos		
		R ₆	V ₈	V ₁₂	R ₆	V ₈	R ₁	R ₆	R ₆	R ₆	R ₆	R ₆	R ₆
Tratamentos	5	0,0296 ^{ns}	0,6279 ^{ns}	0,7554 ^{ns}	0,8044 ^{ns}	2,3030 ^{ns}	33,2420 ^{ns}	0,0359 ^{ns}	0,0006*	0,0002	0,0002	16,5868 ^{ns}	
Bloco	3	0,0587	6,1961	8,1326	0,1838	1,6061	2,1528	0,0121	0,0002	0,0002	0,0002	25,9811	
Resíduo	15	0,1280	2,3771	1,7790	0,3144	1,4754	19,8194	0,0167	0,0002	0,0002	0,0002	23,8201	
CV(%)		32,27	19,23	3,61	2,00	4,21	1,82	9,89	6,27	13,84			
FV	GL	Clorofila A			Clorofila B			Clorofila total			Produtividade		
		V ₁₂	V ₁₂	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁	R ₁
Tratamentos	5	0,5490 ^{ns}	0,0690 ^{ns}	0,9460 ^{ns}	0,4312 ^{ns}	0,3634 ^{ns}	1,3805 ^{ns}	120063,3111 ^{ns}					
Bloco	3	3,1542	3,2051	0,9459	2,5843	0,7978	5,2199	60028,1758					
Resíduo	15	0,8113	0,3453	4,1918	0,2117	0,2168	0,7403	128486,6116					
CV(%)		2,18	3,48	3,52	1,06	2,37	1,36	3,08					

* ^{ns}: significativo e não significativo, respectivamente, pelo teste *F* a 0,05 de significância;

Segundo Sá Junior (2012), o modo de inoculação de *Azospirillum brasilense* interfere na sua atuação. Segundo o autor a inoculação via tratamento de sementes propicia incremento na produtividade do milho, já a inoculação via pulverização e o aumento na dosagem não alteram a produtividade do milho.

Dourado Neto et al. (2014) relataram o mesmo para os reguladores de crescimento, em que a superioridade do tratamento de sementes em relação às demais formas de aplicação pode estar relacionada ao efeito superior destes no início do desenvolvimento de plantas. Estes resultados concordam com os de Dourado Neto et al. (2004), que observaram, em milho, que a aplicação do regulador de crescimento foi mais eficiente, quando realizada no tratamento de sementes, em comparação com a pulverização na fileira de semeadura e via foliar. Em contrapartida, Ferreira Jr. et al. (2016) relatam que a aplicação foliar de reguladores de crescimento resultou em maior produtividade de grãos de milho. Outra explicação do efeito dos reguladores de crescimento é que estes são variáveis conforme o estágio de desenvolvimento da planta, sendo a sua ação mais efetiva na emergência das plântulas e no desenvolvimento inicial (DOURADO NETO et al., 2014)

São encontradas também literaturas que relatam a ausência de resposta à inoculação, dos micronutrientes e reguladores de crescimento. Deste modo, Ferreira Jr. et al. (2007) avaliando o efeito do reguladores de crescimento via tratamento de sementes, seis meses antes da semeadura e na pré semeadura não observaram incremento na produtividade de grãos da cultura do milho, reforçando a ideia de que aplicação de reguladores de crescimento em diferentes estádios fenológicos da cultura podem resultar em efeitos distintos.

Campos et al. (2000) com a inoculação de *Azospirillum brasilense*, não obtiveram resposta para o rendimento de grãos na cultura do milho. O mesmo foi observado para as culturas de trigo e aveia (CAMPOS et al., 1999). Verona et al. (2010) relatam que não houve diferença significativa com a inoculação para as variáveis altura, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz de plantas de milho, na presença ou não de reguladores de crescimento. As bactérias *Azospirillum* são sensíveis a altas temperaturas, principalmente acima de 35°C, e a deficiência hídrica (HUNGRIA, 2011). Apesar das constantes chuvas observadas em Uberlândia-MG durante a condução do ensaio, as temperaturas mantiveram elevadas, bem como no local do experimento, o que pode ter prejudicado o desempenho das bactérias.

Segundo Tanner (1982), citado por Teixeira (2006), o teor de 0,08 mg kg⁻¹ de Mo nas sementes é suficiente para possibilitar o crescimento normal de plantas de milho, conseqüentemente, volumes extras dos micronutrientes estudados não necessariamente implicam em maior produtividade (FERREIRA JR. et al., 2014). Segundo Teixeira (2006) o

estande final e a produtividade do milho não foram significativamente afetados pela aplicação de doses de molibdênio.

Martins et al. (2014) avaliaram o emprego de diversos produtos foliares, como micronutrientes, reguladores de crescimento e *Azospirillum brasilense* no tratamento de sementes de forma associada, e concluíram que estas associações não apresentam vantagens para a cultura do milho, representando ainda maior custo para o produtor. O autor sugere que se deve investir em estudos abrangendo este tema, uma vez que a maioria das respostas que se tem até o momento é obtida de forma isolada.

A ausência de resultados positivos no presente trabalho pode estar relacionada às boas condições do solo de forma geral. Acredita-se que os efeitos da aplicação de reguladores de crescimento e fertilizantes são significativos quando as plantas são submetidas a determinadas condições de limitação dos recursos de produção (nutricional, climático, hídrico, fitotoxicológico) (CRUZ et al., 2011; MARTINS et al., 2014). É provável que os níveis desses durante o período de condução deste experimento não foram propícios para que os produtos manifestassem os seus benefícios.

4.1 Diâmetro de colmo

A utilização de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento, molibdênio e cobalto não influenciaram o diâmetro de colmo nos estádios avaliados (Tabela 4). Segundo Fancelli e Dourado Neto (2000) o colmo atua como estrutura armazenadora de sólidos solúveis durante o crescimento vegetativo e os disponibiliza no momento do enchimento de grãos, tornando um fator limitante para a formação dos mesmos. Em função disto, nota-se na Tabela 4 diminuição significativa do diâmetro dos colmos no ponto da colheita, pois á partir da fase reprodutiva, o milho necessita do máximo da capacidade fotossintética para a translocação de fotossimilados á espiga, caracterizando a relação fonte (colmo) / dreno (espiga). Nesse sentido, Dourado Neto et al. (2014) em seu trabalho afirmam que maiores diâmetros de colmo podem auxiliar na redução de plantas quebradas e/ou acamadas, o que está relacionado com o rendimento e qualidade de grãos.

Resultados semelhantes ao presente trabalho foram encontrados por Dourado Neto et al. (2014) e Santos et al. (2013) cuja aplicação de reguladores de crescimento não influenciou o diâmetro de colmo. Dotto et al. (2010) também não verificaram efeito sobre o diâmetro de

colmo, com a inoculação da bactéria *Herbaspirillum seropedicae* e três níveis de N em cobertura em milho.

Tabela 4. Médias do diâmetro dos colmos em estágio V₈, V₁₂, R₁ e R₆ em função da presença ou ausência dos *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Diâmetro (mm)			
	V ₈	V ₁₂	R ₁	R ₆
Testemunha	24,05	26,30	25,94	23,50
<i>Azospirillum brasilense</i>	23,35	25,97	26,18	23,77
Reguladores de crescimento	23,28	25,84	26,10	24,97
Cobalto - Molibdênio	24,13	26,64	25,95	23,47
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	23,25	25,65	25,30	22,48
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	23,47	26,21	26,13	24,04

4.2 Altura da última folha (base), da última folha estendida, da planta e da espiga

A utilização de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes não influenciaram na altura da última folha (base) e na última folha estendida (Tabela 5).

Tabela 5. Médias da altura da última folha e altura da última folha estendida avaliadas no estágio V₈ e V₁₂, em função da presença ou ausência do *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Altura da folha (base) (cm)		Altura da folha estendida (cm)	
	V ₈	V ₁₂	V ₈	V ₁₂
Testemunha	29,18	126,39	91,15	224,84
<i>Azospirillum brasilense</i>	28,42	125,28	90,93	222,94
Reguladores de crescimento	28,85	127,45	90,20	226,99
Cobalto - Molibdênio	28,79	126,73	90,34	225,54
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	27,36	126,53	89,31	225,26
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	27,69	124,02	89,71	221,88

A utilização de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes não influenciaram a altura da planta e a altura da espiga no estágio avaliado (Tabela 6). Martins et al. (2014) não observaram influencia na altura de inserção de espiga e tampouco na altura de plantas, utilizando tratamentos com reguladores de crescimento e fertilizantes líquidos

Tabela 6. Médias da altura das plantas e das espigas avaliadas no estágio R₆, em função da aplicação do *Azospirillum brasilense* associado a reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Altura das plantas (cm)	Altura das espigas (cm)
Testemunha	273,31	157,12
<i>Azospirillum brasilense</i>	269,12	157,19
Reguladores de crescimento	270,12	154,56
Cobalto - Molibdênio	235,34	155,75
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	267,40	156,56
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	267,44	155,87

4.3 Área foliar

A presença de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes não alterou as dimensões foliares, não resultando em influencia na área foliar (Tabela 7). Nas plantas, as folhas podem se chamadas de fábrica de grãos, pois são órgãos fundamentais para a ocorrência da fotossíntese, influenciando diretamente no potencial produtivo das culturas.

A área foliar tende a aumentar gradativamente até alcançar seu máximo, iniciando um decréscimo devido à senescência das folhas mais velhas, sendo assim quanto mais rápido a cultura atingir o índice de área foliar máximo e mais tempo conseguir mantê-lo, maior será seu rendimento (MANFRON et al., 2003; VIECELLI et al., 2011; REZENDE, 2014).

Fatores bióticos e abióticos podem reduzir a área foliar da cultura do milho em todas as fases de seu desenvolvimento. A manutenção da área foliar no período vegetativo da cultura é primordial, pois nessa fase ocorre o desenvolvimento da planta e definição do potencial produtivo (MAGALHÃES, 2002; REZENDE, 2014).

Santos (2009) trabalhando com aplicação de soluções de reguladores de crescimento na cultura da soja, não verificou resultados significativos para área foliar.

Tabela 7. Médias da área foliar nos estádio V₈ e V₁₂ em função da aplicação do *Azospirillum brasilense* associado a reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Área foliar (cm ²)	
	V ₈	V ₁₂
Testemunha	335,22	943,53
<i>Azospirillum brasilense</i>	325,25	939,51
Reguladores de crescimento	317,38	953,91
Cobalto - Molibdênio	321,75	946,40
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	320,21	944,95
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	313,34	927,99

4.4 Matéria seca e matéria fresca da parte aérea

A matéria seca e fresca da parte aérea não foram influenciadas pelo uso de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes (Tabela 8).

Ferreira et al. (2007) observaram que a massa seca de parte aérea das plântulas foi maior quando as sementes foram tratadas com reguladores de crescimento seis meses antes da semeadura, e não obtiveram resultados significativos com o tratamento de pré-semeadura.

Verona et al. (2010) relataram que não houve diferença significativa para massa seca de parte aérea inoculadas com *Azospirillum brasilense*, na presença ou não de reguladores de crescimento. Em contrapartida, Braccini et al. (2012) em seu trabalho com inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* observaram aumento da matéria seca das plantas inoculadas.

Tabela 8. Médias da matéria seca e matéria fresca da parte aérea em estágio V₈, V₁₂ e R₁ em função da aplicação do *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Matéria fresca (g)			Matéria seca (g)		
	V ₈	V ₁₂	R ₁	V ₈	V ₁₂	R ₁
Testemunha	191,65	498,53	30,84	28,99	21,70	9,96
<i>Azospirillum brasilense</i>	190,03	503,70	31,00	29,40	22,40	9,66
Reguladores de crescimento	191,75	519,20	29,99	29,16	22,60	9,40
Cobalto - Molibdênio	187,95	492,27	32,30	29,69	21,90	10,01
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	187,48	498,90	31,40	29,39	22,60	9,54
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	187,45	490,75	31,90	28,58	21,54	10,21

4.5 Teor de Nitrogênio foliar

Verificou-se que a aplicação com *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes não influenciaram o teor de nitrogênio foliar nos estádios avaliados (Tabela 9).

Tabela 9. Médias do teor de nitrogênio foliar no estágio V₈, V₁₂ e R₁ em função da aplicação do *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Teor de nitrogênio foliar (g kg ⁻¹)		
	V ₈	V ₁₂	R ₁
Testemunha	37,28	28,70	29,40
<i>Azospirillum brasilense</i>	36,23	28,35	27,65
Reguladores de crescimento	37,10	28,00	29,75
Cobalto - Molibdênio	36,80	28,00	28,35
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	37,50	27,48	29,05
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	36,93	27,70	29,05

As quantidades de nutrientes extraídas pelas plantas de milho dependem do manejo adotado durante o ciclo da cultura, que permitam a disponibilidade destes nutrientes à planta.

O teor de nitrogênio nas folhas das plantas de milho é influenciado pela adubação nitrogenada (MARTINS, 2014). Ferreira et al. (2001) afirmam que os níveis críticos de N foliar necessários para a obtenção de 90% da produção máxima de grãos é de 2,73 e 2,00 % respectivamente aos 45 e 63 dias após a emergência (DAE). No presente trabalho entre 40 a 65 DAE o teor de N variou em média entre 3,62 a 2,97 (%). Estes dados evidenciam a alta disponibilidade de nitrogênio no solo da área experimental que contribuíram para elevada extração desse nutriente para a planta.

Os resultados encontrados por Hungria et al. (2010) condizem com o presente trabalho, em que não foram encontradas diferenças no teor de nutrientes nas folhas de plantas de milho inoculadas com espécies de *Azospirillum*.

4.6 Clorofila

Com relação ao teor de clorofila da planta não houve efeito significativo nos estádios V₁₂ e R₁, em função da aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes (Tabela 10). O teor de clorofila foliar possui estreita relação com a disponibilidade de N, pois esse nutriente participa de sínteses de proteína e clorofila. Martins et al. (2008) afirmam que o teor de clorofila em genótipos de milho é influenciado pela disponibilidade de N no ambiente.

Tabela 10. Médias do teor de clorofila foliar (ICF) nos estádios V₁₂ e R₁ em função da aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	V ₁₂			R ₁		
	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila Total	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila Total
Testemunha	40,93	16,76	57,70	43,13	19,17	62,29
<i>Azospirillum brasilense</i>	41,32	16,93	58,30	43,98	19,63	63,61
Reguladores de crescimento	41,17	16,92	58,80	43,71	19,94	63,65
Cobalto - Molibdênio	41,04	16,75	57,80	43,30	19,57	62,90
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	41,93	17,11	59,04	43,31	19,42	62,72
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	41,56	16,84	58,40	43,72	19,94	63,70

4.7 Matéria fresca e seca do colmo; e Densidade de colmo

Em relação à matéria fresca e a densidade de colmos não houve influência significativa das aplicações de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. A inoculação somente de *Azospirillum brasilense* influenciou positivamente na matéria seca dos colmos quando comparado com a aplicação de *Azospirillum brasilense* + Reguladores de crescimento (Tabela 11).

Tabela 11. Médias da matéria fresca e seca, e densidade de dez colmos em estágio R₆ em função da aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Matéria fresca dos colmos (g)	Matéria seca dos colmos (g)	Densidade dos colmos (g/dm ³)
Testemunha	1,38 a	0,20 ab	34,37 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	1,33 a	0,23 a	39,04 a
Reguladores de crescimento	1,32 a	0,21 ab	34,62 a
Cobalto - Molibdênio	1,42 a	0,22 ab	35,74 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	1,17 a	0,19 b	34,78 a
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	1,22 a	0,21 ab	33,1 a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo Alvim (2011), tratamentos com proteção e nutrição foliar tiveram resultados superiores ao da testemunha em relação à densidade de colmos. A nutrição foliar com cobalto e molibdênio foi extremamente importante pra a manutenção do “Stay Green”, ressaltando que colmos mais densos são mais úmidos e mantêm-se verdes por mais tempo e consequentemente são mais flexíveis e resistentes ao quebramento. Fancelli (2000) menciona que a contribuição do colmo no percentual de enchimento de grãos pode variar de 17% até 44%.

4.8 Resistência do colmo ao quebramento

A presença do *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes não influenciaram na força necessário ao quebramento de colmo (Tabela 12). Porém vale à pena salientar a importância da qualidade do colmo, pois este está diretamente relacionada à fotossíntese, ao fornecimento de elementos associados ao crescimento e desenvolvimento da planta e consequente acúmulo de glicose, refletindo na produtividade. Quanto maior for o fornecimento, maior será a resistência do caule ao rompimento.

Tabela 12. Médias da força necessária ao quebramento do colmo avaliadas em estágio R₆, em função dos tratamentos. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Força de quebramento (kgf)
Testemunha	0,98
<i>Azospirillum brasilense</i>	1,11
Reguladores de crescimento	1,23
Cobalto - Molibdênio	1,05
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	1,15
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	1,15

4.9 Resistência das raízes ao arranquio da planta

No presente trabalho, não houve efeito do uso de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes na avaliação da resistência das raízes ao arranquio (Tabela 13). O quebramento e o acamamento são fenômenos dependentes de fatores genéticos, edafoclimáticos, de práticas culturais adotadas e danos causados por patógenos (CRUZ et al., 2003). Ressalta-se que o vento e a chuva, são os principais agravantes para o quebramento e acamamento da planta de milho.

Segundo Almeida et al. (2000), em condições de competição do milho com plantas infestantes há uma maior probabilidade de ocorrência de tombamento e quebramento, o que favorece a incidência de podridões de espiga e aumento da quantidade de grãos ardidos, além de dificultar ou mesmo inviabilizar a colheita.

Tabela 13. Médias da resistência das raízes ao arranquio avaliadas no estágio R₆, em função dos tratamentos. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Resistência das raízes ao arranquio (kgf)
Testemunha	7,91
<i>Azospirillum brasilense</i>	8,60
Reguladores de crescimento	8,07
Cobalto - Molibdênio	8,34
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	7,55
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	7,66

4.10 Estande final

O estande final não foi influenciado pelo uso de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes (Tabela 14). Resultados semelhantes foram encontrados por Martins et al. (2014) e Ferreira et al. (2007) que não verificaram diferença significativa para parâmetros de estande final em cultivares de milho submetidas ao tratamento de semente com reguladores de crescimento, fertilizantes líquidos e *Azospirillum brasilense*.

Tabela 14. Médias do estande final avaliadas no estágio R₆, em função dos tratamentos. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Estande final (plantas ha ⁻¹)
Testemunha	72549,88
<i>Azospirillum brasilense</i>	72990,02
Reguladores de crescimento	70642,60
Cobalto - Molibdênio	71376,17
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	72256,45
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	71889,67

4.11 Produtividade

A aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes não influenciaram significativamente a produtividade da cultura de milho (Tabela 15).

Tabela 15. Produtividade média da cultura do milho em função da aplicação de *Azospirillum brasilense*, reguladores de crescimento e micronutrientes. Uberlândia – MG, 2017.

Tratamentos	Produtividade (kg ha ⁻¹)
Testemunha	11630
<i>Azospirillum brasilense</i>	11490
Reguladores de crescimento	11913
Cobalto - Molibdênio	11423
<i>Azospirillum brasilense</i> + Reguladores de crescimento	11700
<i>Azospirillum brasilense</i> + Cobalto - Molibdênio	11580

Na literatura encontra-se resultados semelhantes ao do presente trabalho, em que não houve incremento significativo (FERREIRA et al., 2007; MARTINS, 2014), mas considerável em termos econômicos e sustentáveis (FREITAG, 2014).

5 CONCLUSÃO

A aplicação de *Azospirillum brasilense*, dos reguladores de crescimento e de cobalto e molibdênio, e a associação destes tratamentos no estágio V₄, nas condições em que o trabalho foi realizado, não proporcionou incremento nas características avaliadas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. L.; MEROTTO JUNIOR, A.; SANGOI, L.; ENDER, M.; GUIDOLIN, A.F. Incremento na densidade de plantas: Uma alternativa para aumentar o rendimento de grãos de milho em regiões de curta estação estival de crescimento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.23-29, 2000.
- ALVES, G. C. **Efeito da Inoculação de Bactérias dos Gêneros *Herbaspirillum* e *Burkholderia* na Cultura do Milho**. Rio de Janeiro: UFRRJ, 2007. 53 p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.
- ALVIM, K. R. T.; BRITO, C. H.; GOMES, L.S.; BRANDÃO, A. M.; LOPES, M.T.G.; Efeito da Aplicação Foliar de Cobalto e Molibdênio na Produtividade e Qualidade de Grãos da Cultura do Milho In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Goiânia, 2010.
- ALVIM, K.R.T.; BRITO, C.H.; BRANDÃO, A.M.; GOMES, L.S.; LOPES, M.T.G. Redução de área foliar em plantas de milho na fase reprodutiva. **Revista Ceres**, Viçosa, v.58, n. 4, p.413-418, 2011.
- ALVIM, K.R.T.; **Influência de fungicidas e adubação foliar em características agronômicas e sanitárias da cultura do milho**. 2011. Dissertação (Mestrado em Agronomia) pela Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.
- BRACCINI, A.L.; DAN, L.G.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, 2012.
- BORRÁS, L. et al. Leaf senescence in maize hybrids: plant population, row spacing and kernel set effects. **Field Crops Research**, v.82, p.13-26, 2003.
- CAMPOS, B.C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante “Graminante” nas culturas de trigo e aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.3, p.401-407, 1999.
- CAMPOS, B.C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. Avaliação do inoculante “Graminante” na cultura do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.4, p.713-715, 2000.
- CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. Biorreguladores e reguladores de crescimento na cultura do milho. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. (Ed.). **Milho: estratégias para alta produtividade**. Piracicaba: Esalq/USP/LPV, 2003. p. 99-115.
- CAVALLET, L.E. et al. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p.129-132, 2000.
- COELHO, A.M. et al. **Cultura do milho**: diagnose foliar do estado nutricional da planta. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo. 2002 (Circular técnica, 45).

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Levantamento de safra.** Décimo Segundo Levantamento de Grãos – Safra 2015/2016, Brasília: Conab, 2016. p.114

CRUZ, P.J.; CARVALHO, F.I.F. de; SILVA, S.A.; KUREK, A.J.; BARBIERI, R.L.; CARGNIN, A. Influência do acamamento sobre o rendimento de grãos e outros caracteres em trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, p.5-8, 2003.

CRUZ, José Carlos et al. (Ed.). **Milho: O produtor pergunta, a Embrapa responde.** Brasília: Embrapa, 2011. 338 p.

CUNHA, A. B. F. *et al.* Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Revista Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p.131-138, Jan/Mar. 2001.

DIOS, R.V.; BROYER, T.C. Deficiency symptoms and essentiality of molybdenum in corn hybrids. **Agrochimica**, Pisa, v.9, n.3, p273, 1965.

DÖBEREINER J, BALDANI VLD & BALDANI JI. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas.** Itaguaí: Embrapa-CNPAB, 60p., 1995.

DOTTO, A.P. et al. Produtividade de milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.3, p.376-382, 2010.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; VIEIRA JUNIOR, P. A.; MANFRON, P. A., MARTIN, T. N.; BONNECARRÉRE, R. A. G.; CRESPO, P. E. N. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, Uruguaiana, v. 11, n. 1, p. ?, 2004.

DOURADO NETO D.; DARIO G.J.A.; MARTIN T.N.; BARBOSA D.K. MOCHINSKI A. **Influência de fitoreguladores no crescimento do milho.** I Seminário Sistemas de Produção Agropecuária, Campus Dois Vizinhos: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2007.

DOURADO NETO D.; DARIO G.J.A.; BARBIERI A.P.P.; MARTIN T.N.; **Ação de estimulante no desempenho agrônomo de milho e feijão.** Uberlândia, v.30, supplement 1, p. 371-379, 2014.

DUARTE, J. O.; GARCIA, J. C.; MIRANDA, R. A.; Cultivo do Milho: Economia da produção, Sistema de produção, 1 Versão Eletrônica – 7ª edição, Embrapa Milho e Sorgo 2011.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas** 2.ed. Londrina: Editora Planta, 2006. 404p.

FARIA, M.V. **Proteção e nutrição foliar na produção de massa seca, acúmulo, extração e exportação de macro e micronutrientes em híbridos de milho.** 2014. 84f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA Ltda. **Manual do medidor eletrônico de teor de clorofila** (ClorofiLOG / CFL 1030). Porto Alegre: Falker Automação Agrícola, 2008. 33p.

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

FANCELLI, A.L. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho. **IPNI. Informações agrônomicas**, n. 131. Piracicaba, SP, 2010, 24p.

FARINELLI R.; LEMOS L.B. Produtividade e eficiência agrônômica do milho em função da adubação nitrogenada e manejos do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, n.2, p.135-146, 2010.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L.; TREVELIN, P. C. O. Parcelamento da adubação nitrogenada na cultura do milho e utilização do N residual pela sucessão aveia preta-milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1138-1141, 2008.

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

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

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA Jr., D.C.; REZENDE, W.S. BRITO, C.H.; Influência da Aplicação Foliar de Cobalto e Molibdênio sobre Características Agrônomicas da Cultura do Milho. In: XXX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Salvador, 2014.

FERREIRA Jr., D.C.; JÚNIOR, R.C.; SALES, C.G.R.; LANDIM, T.N.; WERLANG, R. C.; BRITO, C.H.; Produção e qualidade de grãos de milho sob doses de nitrogênio e reguladores de crescimento. In: XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Bento Gonçalves, 2016.

FIGUEIREDO M.V.B.; BURITY, H.A.; STAMFORD, N.P.; SANTOS, C.E.R.S. **Microrganismos e Agrodiversidade: o novo desafio para a agricultura**. Guaíba: Agrolivros, 2008. 586 p.

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

FREITAG, C.; **Efeito do reguladores de crescimento Stimulate® em diferentes doses na produtividade total de milho (Zea mays)**. 2014. 40 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de curso) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso Agronomia. Pato Branco, 2014.

GALVÃO J.C.C.; BORÉM A.; PIMENTEL M.A. **Milho: do Plantio à Colheita**. Viçosa: Ed. UFV, 2015. 351p.

GAD, N.; ABDEL-MOEZ, M. R.; KANDIL, H. Influence of Cobalt and Mycorrhizae Mediated Phosphorus on Some Higher Plants Growth and Yield. **Journal of Basic and Applied Scientific Research**, Cairo, v.2, n.11, p.11942-11951, 2012.

GOMES, L. S.; BRANDÃO, A. M.; BRITO, C. H. de; MORAES, D. F. de; LOPES, M. T. G. Resistência ao acamamento de plantas e ao quebramento do colmo em milho tropical. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 45, n. 2, p. 140-145, fev. 2010.

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

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasiliense*: inovação em rendimento a baixo custo.** Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p.

JALEEL, C. A.; JAYAKUMAR, K.; CHANG-XING, Z.; IQBAL, M. Low concentration of Cobalt Increases Growth, Biochemical Constituents, Mineral Status and Yield in *Zea mays*. **Journal of Scientific Research**, Rajshahi, v.1, n.1, p.128-137, 2009.

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

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho.** Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1994. 27p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 20).

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho.** Sete Lagoas: EMBRAPA, CNPMS, 2002. 23p. (EMBRAPA, CNPMS. Circular Técnica, 22).

MANFRON, P.A.; DOURADO NETO, D.; PEREIRA, A.R.; BONNECARRÈRE, R.A.G.; MEDEIROS, S.L.P.; PILAU, F.G. Modelo do índice de área foliar da cultura do milho. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 11, p. 333-342, 2003.

MARTINS, A.O et al. Nitrogen-use efficiency of maize genotypes in contrasting environments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v.8, p.291-298, 2008.

MARTINS, D. C.; BORGES, I.D.; CRUZ, J.C.; NETTO, D.A.M.; Cultivares de milho submetidas ao tratamento de sementes com reguladores de crescimento fertilizantes líquidos e *Azospirillum* sp. In: XXX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Salvador, 2014.

MARTINS, D.C. **Cultivares de milho submetidas ao tratamento de sementes com reguladores de crescimento fertilizantes líquidos e *Azospirillum* sp.** 2014, 41f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, 2014.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plant.** 2.ed. New York: Academic Press, 1995. 889p.

MORAIS T.P.; BRITO C.H.; FERREIRA A.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*. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 62, n.6, p. 507-509, nov-dez, 2015.

MORAIS, T.P. **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho**. 2012. 70f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

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

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; SANTOS, S. O. Efeito de fitorreguladores sobre o desenvolvimento de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Carioca. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 5, n. 1, p. 7-13, 1999.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, **Applied and Environmental Microbiology**, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.

PEREIRA, O.A.P. Situação atual de Doenças da cultura do milho no Brasil e estratégias de controle. In: **Encontro Sobre Temas De Genética E Melhoramento**, 12, Piracicaba, 1995. Anais. Piracicaba: Departamento de Genética/ ESALQ, p. 25-30, 1995.

PEREIRA, S. L.; ARAÚJO, G. A. A.; SEDIYAMA, C. S.; VIEIRA, C.; MOSQUIM, P. R. Efeitos da adubação nitrogenada e mólíbdica sobre a cultura do milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.4, p.791-799, 1999.

PERSELLO-CARINEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGIA, C. Tales from the underground: molecular plant rhizobacteria interactions. **Plant Cell and Environment**, Oxon, v. 26, p. 189-99, 2003.

RAVEN, P. H., EVERT, R. F. & EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7. ed. Coord. Trad. J.E.Kraus. Rio de Janeiro. Editora Guanabara-Koogan. 2007. 830p.

REZENDE, W.S.; **Implicações da desfolha precoce e da proteção química à mancha branca na cultura do milho**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J; BENSON, G.O. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1993.

SÁ JÚNIOR, A.; **Comportamento agrônomico do milho em resposta ao modo de aplicação e concentrações de *Azospirillum brasilense***. 2012. 51f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

SANTOS, Cícera Régis Siqueira dos. **Stimulate® na germinação de sementes, vigor de plântulas e no crescimento inicial de soja**. 2009. 44 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de

Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2009.

SANTOS, V. M. et al. Uso de reguladores de crescimento no crescimento de plantas de *Zea mays* L.. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Gurupi, v. 12, p. 307-318, 2013.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Trad. Santarém, E. R. et. Al. 3. ed.; Porto Alegre: Artmed, 2004, 719p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Trad. Junior, A.M.D. et. Al. 5. ed.; Porto Alegre: Artmed, 2013, 918p.

TANNER, P.D. Manganese toxicity and molybdenum deficiency effects on maize grown in an acid fersiallitic red Sandy clay loam. **Rhodesian Journal of Agricultural Research**, Solisbury, v. 14, p. 95, 1976.

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

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **World Agricultural Production**. 2017. Disponível em: < <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/worldag-production/worldag-production-03-09-2017.pdf>>. Acesso em: 05 de Abril de 2017.

VIECELLI, C.A.; FILLWOCK, J.M.; SUZIN, V. Efeito do desfolhamento das plantas na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v.4, n.3, p. 179-190, 2011.

VIEIRA JR, P.A.. MILHO. In: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R. A. **Ecofisiologia de cultivos anuais**. 1. ed. rev. São Paulo: Nobel, 1999. P. 41-71.

VIEIRA, E. L., CASTRO, P. R. C. **Ação de estimulante no desenvolvimento inicial de plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. Piracicaba: USP. Dept°. Ciências Biológicas, 2002. 3p.

VERONA, D. A. et al. Tratamento de sementes de milho com Zeavit[®], Stimulate[®] e inoculação com *Azospirillum* sp. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28., 2010. Goiânia. Anais...Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. P.3731-3737. 2010, CD-ROM.

YAMADA, T.; CASTRO, P.R.C. Efeitos do glifosato nas plantas: Implicações fisiológicas e Agronômicas. **International Plant Nutrition Institute**, 2007. 32 p. (Encarte Técnico Informações Agronômicas, n.119)

WEAVER, R.J. **Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura**. 2.ed.
Barcelona: Trillas, 1982. 540p