

---

## INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilense* NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO DOCE

SOUZA, Epitácio José de<sup>1</sup>  
MAGALHÃES, Fernando Fagner<sup>2</sup>  
ALVES, Charline Zaratini<sup>3</sup>  
CÂNDIDO, Ana Carina da Silva<sup>3</sup>  
SILVA, Thiago Ramos da<sup>2</sup>  
CUNHA, Fernando França da<sup>4</sup>

---

Recebido em: 2013.07.10

Aprovado em: 2014.03.28

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.939

---

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho doce submetidas à inoculação de *Azospirillum brasilense* em diferentes períodos e diluições em água. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial (4 x 4), mais uma testemunha que não recebeu inoculação de *A. brasilense*. Foram avaliados quatro períodos entre a inoculação e a instalação dos testes (0, 24, 48 e 72 horas) e quatro diluições do inoculante em água (1:0, 1:1, 1:2 e 1:3). Foram utilizadas sementes de milho doce híbrido comercial Tropical Plus e as estirpes de *A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6, na dose do produto comercial de 4 mL kg<sup>-1</sup> de semente. Os parâmetros avaliados foram germinação, primeira contagem de germinação, porcentagem de sementes anormais, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, comprimento de epicótilo e de raiz, massa de matéria seca da parte aérea e raiz. A diluição de *A. brasilense* em água não afetou nenhum parâmetro avaliado na semente de milho doce, e o aumento no tempo entre a inoculação e a instalação dos testes proporcionou redução na primeira contagem de germinação, índice de velocidade de emergência e massa de matéria seca de raiz. Conclui-se que, em condições de laboratório, a inoculação de *A. brasilense* não beneficia a germinação e vigor das sementes de milho doce.

**Palavras-chave:** Germinação. Diazotrófica. Fixação biológica de nitrogênio. Vigor.

## INOCULATION OF *Azospirillum brasilense* IN PHYSIOLOGICAL QUALITY OF SWEET CORN SEED

**SUMMARY:** The aimed of this study was to survey the physiological quality of sweet corn seeds submitted to inoculation of *Azospirillum brasilense* in different periods and dilutions in water. The experiment was conducted on the entirely randomized design with four replications in a factorial (4 x 4) more a witness without inoculation of *A. brasilense*. Were evaluated four periods between the inoculation and installation of the tests (0, 24, 48 and 72 hours) and four dilutions of the inoculant in water (1:0, 1:1, 1:2 and 1:3). Were utilized seeds of sweet corn evaluated Tropical Plus hybrids and commercial strains of *A. brasilense* Ab-V5 and V6, in the dose of the commercial product 4 mL kg<sup>-1</sup> seed. The parameters evaluated were germination, first count of germination, percentage of abnormal seeds, emergency, emergency speed index, length of epicotyl and of root, mass of the dry matter of shoots and of root. The dilution of *A. brasilense* in water did not affect no one parameter evaluated on the seeds of sweet corn, and the increase in the time between inoculation and the installation of the tests provide reduction on the first count of germination, speed emergency index and mass of dry matter of roots. It is concluded that, under laboratory conditions, inoculation of *A. brasilense* not benefits to germination and seed vigor of sweet corn.

**Keywords:** Germination. Diazotrophic. Biological nitrogen fixation. Vigor.

---

<sup>1</sup> Doutorando em Agronomia. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus Ilha Solteira.

<sup>2</sup> Graduando em Agronomia. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus Chapadão do Sul.

<sup>3</sup> Professora Doutora. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Chapadão do Sul.

<sup>4</sup> Professor Doutor. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Campus Unaí. fernando.cunha@ufvjm.edu.br (autor para correspondência)

## INTRODUÇÃO

O milho doce (*Zea mays* L. var. *saccharata* Korn) é classificado como especial e destina-se exclusivamente ao consumo humano. É utilizado principalmente como milho verde, tanto “in natura” quanto para processamento pelas indústrias de produtos vegetais em conserva (CARMO *et al.*, 2012). A principal diferença entre o milho comum e o milho doce é a composição de seu endosperma, devido os seus altos teores de açúcares em relação ao amido (ARAGÃO *et al.*, 2001; TEIXEIRA *et al.*, 2001). Segundo Oliveira *et al.* (2008), essas últimas características, somadas ao pericarpo tenro, contribuem para a baixa uniformidade de emergência de plântulas do milho doce.

Segundo Aragão *et al.* (2003), o uso de reguladores de crescimento na fase de germinação melhora o desempenho das plântulas, acelerando a velocidade de emergência e realçando o potencial das sementes de várias espécies, mesmo sob condições adversas. Sanwo e Demanson (1994), demonstraram que sementes de milho doce são sensíveis a aplicação de ácidos giberélico (GA) exógeno.

Em um estudo realizado por Cassán *et al.* (2008), foi verificado que bactérias diazotróficas *Azospirillum brasilense* foram capazes de excretar zeatina, GA e ácido indolacético (AIA) em concentrações suficiente para promover alterações fisiológicas e morfológicas em sementes de milho.

Para que o estabelecimento desta relação simbiótica seja realizado eficientemente, é necessário que a distribuição dos inóculos sobre a superfície da semente seja realizada de forma uniforme. Segundo Schuch *et al.* (2006), o aumento do volume de calda melhora distribuição de produtos sobre a superfície da semente, porém deve-se ressaltar que o excesso de solução aquosa, pode causar danos, soltando o tegumento e prejudicando a germinação (KRZYZANOWSKI *et al.*, 2006).

Apesar de vários trabalhos relatarem os benefícios de *A. brasilense* em diferentes culturas, não existem pesquisas sobre inoculação em milho doce, principalmente sobre o efeito na qualidade fisiológica das sementes, que influenciará diretamente no estabelecimento das plântulas a campo e por consequência na produtividade da cultura.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho doce, por meio da germinação e vigor, submetidas à inoculação de *A. brasilense* em diferentes períodos de inoculação e diluições em água.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Sementes da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus Chapadão do Sul, e realizado utilizando sementes de milho doce do híbrido comercial Tropical Plus e o inoculante contendo *Azospirillum brasilense*, estirpe Ab-V5 e Ab-V6.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial (4 x 4), mais uma testemunha que não recebeu inoculação de *A. brasilense*. Foram avaliados quatro períodos entre a inoculação e a instalação dos testes (0, 24, 48 e 72 horas) e quatro diluições do inoculante em água (1:0, 1:1, 1:2 e 1:3), utilizando-se a dose de 4 mL kg<sup>-1</sup> de semente, como recomendada pelo detentor. A dosagem do produto, a quantidade de água em que o mesmo foi diluído e o volume de calda estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Dosagem do inoculante, quantidade de água em que o mesmo foi diluído e o volume de calda em cada tratamento

| Diluição (Produto:Água) | 1:0 | 1:1 | 1:2  | 1:3  |
|-------------------------|-----|-----|------|------|
| Produto (mL)            | 4,0 | 4,0 | 4,0  | 4,0  |
| Água (mL)               | 0,0 | 4,0 | 8,0  | 12,0 |
| Volume de calda (mL)    | 4,0 | 8,0 | 12,0 | 16,0 |

\*Volumes aplicados em cada 1 kg de produto.

As inoculações de cada tratamento foram realizadas em sacos plásticos de 2 kg de capacidade, utilizando aproximadamente 200g de semente, sendo agitado por três minutos, com posterior secagem a sombra pelos tempos determinados nos períodos de inoculação avaliado.

O teste de germinação foi realizado com quatro repetições de 50 sementes por tratamentos, em rolos de papel germitest, utilizando três folhas umedecidas com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso seco do papel, que foram acondicionados em germinador regulado a temperatura constante de  $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ . Foi avaliada a primeira contagem e a contagem final da germinação aos quatro dias e a segunda contagem aos sete dias, respectivamente (BRASIL, 2009).

O teste de emergência foi realizado em bandejas de poliestireno expandido de 128 células individuais, contendo substrato comercial Plantmax<sup>®</sup>, mantidas em casa de vegetação e irrigadas duas vezes ao dia, com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, sendo a avaliação realizada no décimo dia.

O comprimento de plântulas foi realizado em rolos de papel germitest, utilizando três folhas umedecidas com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso seco do papel. Foram semeadas 20 sementes para cada repetição sobre uma linha traçada longitudinalmente a 3 cm da borda superior do papel. O crescimento das plântulas foi orientado colocando as sementes com a extremidade da futura emissão da futura radícula voltada para a parte inferior do papel, visando que as plântulas crescessem retilíneas. Os rolos das repetições de cada tratamento foram agrupados com atilhos de borracha, fechados com saco plástico e colocados em pé no interior do germinador regulado a  $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ . O comprimento das plântulas normais foi medido ao final do sétimo dia após a instalação do teste, com auxílio de uma régua graduada em milímetros. Utilizando uma lâmina, a parte aérea foi separada das raízes e estas foram medidas separadamente. Os valores obtidos para cada repetição foram somados e divididos pelo número de plântulas normais mensuradas (NAKAGAWA, 1999).

Conjuntamente com o teste de comprimento de plântulas foi mensurada a massa da matéria seca do epicótilo e raízes, sendo colocados em sacos de papel e levados para secagem em estufa termoelétrica com circulação de ar forçada regulada a  $80\text{ °C}$  e durante 24 h. Após o período de secagem, as amostras foram pesadas utilizando uma balança analítica. O peso obtido para cada repetição foi dividido pelo número de plântulas normais mensuradas, resultando na massa média por plântula.

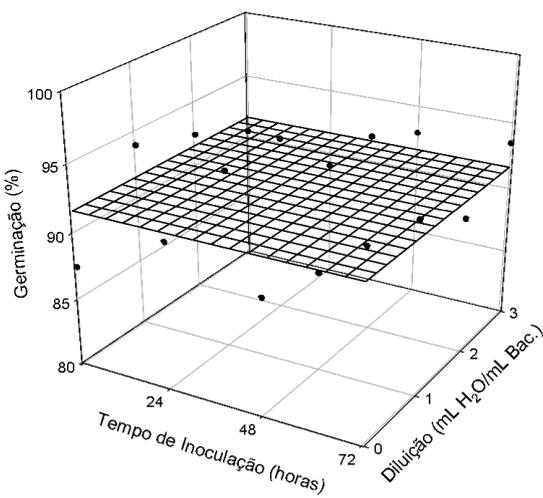
Para comparação entre testemunha e tratamentos foi realizado o teste de Dunnett a 5% de probabilidade. Para os fatores quantitativos, os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão e no fenômeno biológico. Para execução das análises estatísticas, foram utilizados os programas estatísticos “ASSISTAT 7.6” e “SIGMA PLOT 11.0”.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

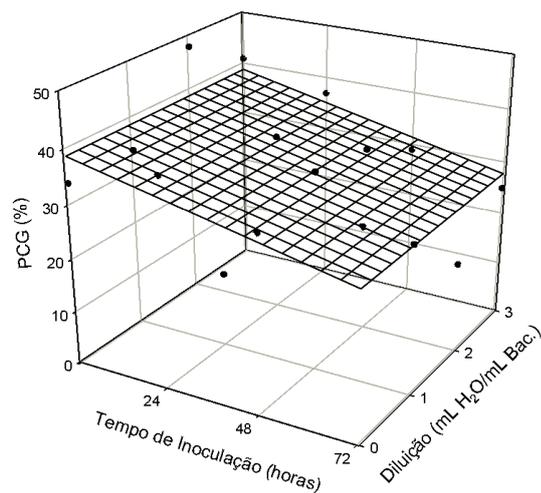
A diluição de *Azospirillum brasilense* em água não afetou nenhum parâmetro avaliado da qualidade fisiológica das sementes de milho doce (Figura 1). Provavelmente essa diferença não foi

constatada devido o produto puro apresentar alta viscosidade e mesmo em pequenos volumes ser o suficiente para o total espalhamento na semente de milho doce. Além disso, devido ao avanço da tecnologia, além de resistência e eficiência dos inoculantes, hoje é possível alcançar altas concentrações de bactérias por volume de produto, podendo chegar a mais de 10 bilhões de bactérias por mililitro. É oportuno ressaltar que o detentor do produto recomenda a aplicação do produto puro, ou seja, sem diluição do mesmo em qualquer fluido.

**Figura 1.** Estimativa da germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), sementes anormais (SA), sementes mortas (SM), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de epicótilo (CE), comprimento de raiz (CR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca de raiz (MSR) de milho doce em função do tempo de inoculação (TI) e diluição de *Azospirillum brasilense*.

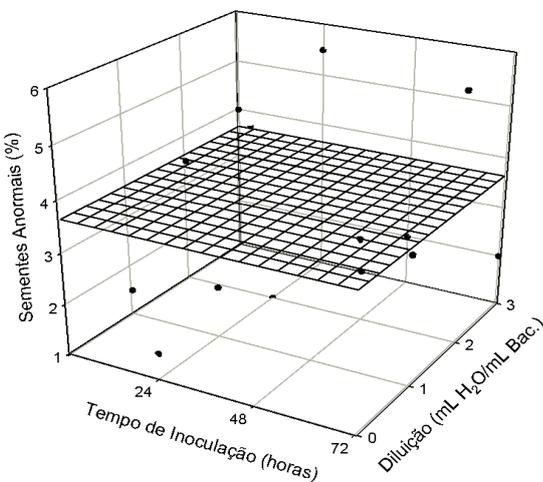


$$G = 91,6605$$

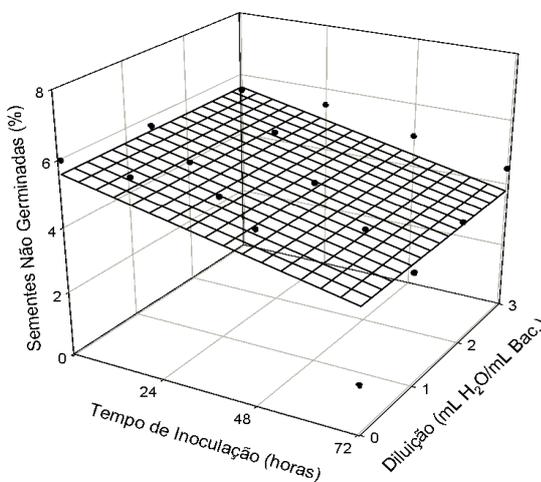


$$PCG = 38,8250^{**} - 0,1531^{*} TI$$

$$P = 0,0210 \quad R^2 = 0,5707$$

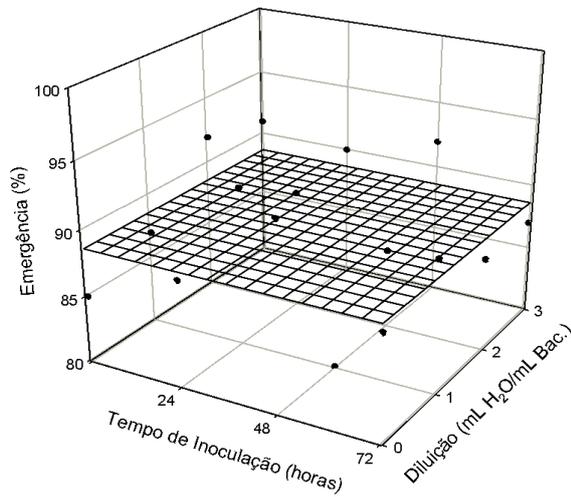


$$SA = 3,6449$$

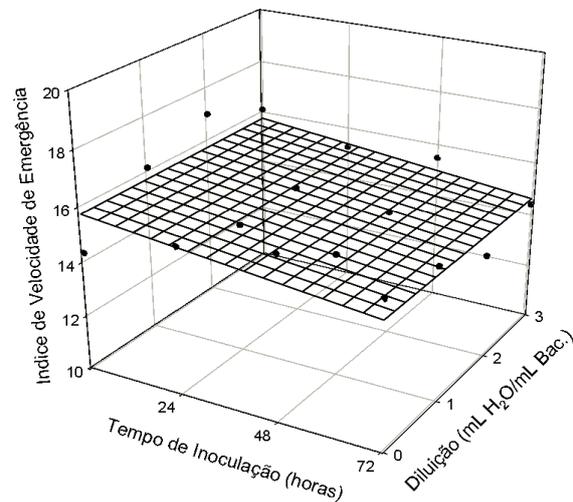


$$SNG = 5,6006^{**} - 0,0252^{*} TI$$

$$P = 0,0449 \quad R^2 = 0,5072$$

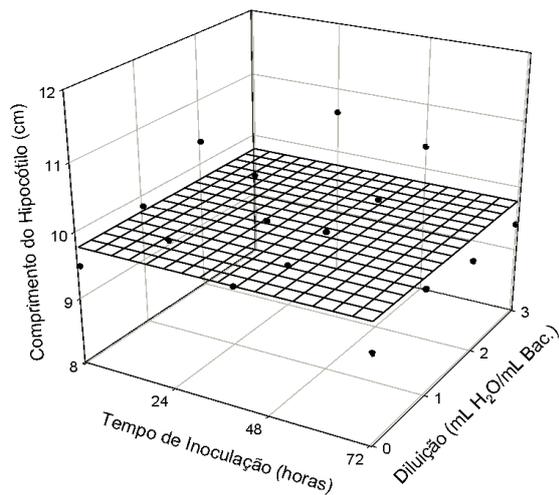


$$E = 88,6250$$

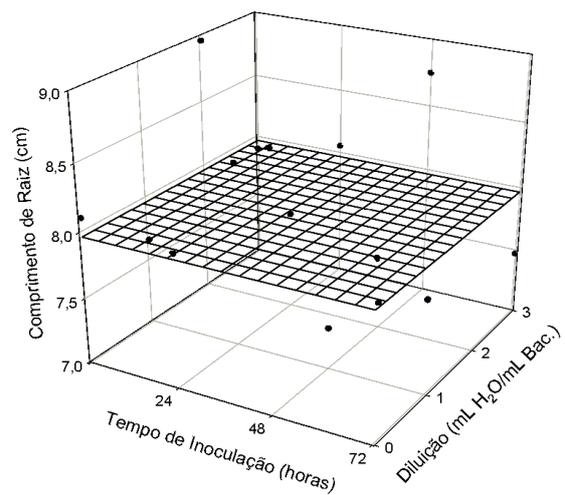


$$\text{IVE} = 15,7603^{**} - 0,0155 * \text{TI}$$

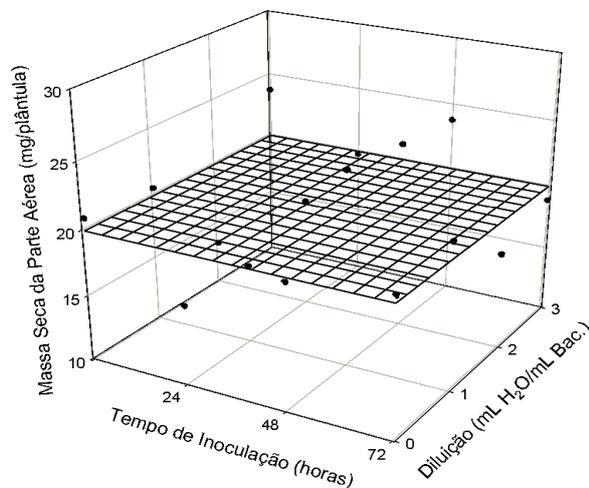
$$P = 0,0376 \quad R^2 = 0,5231$$



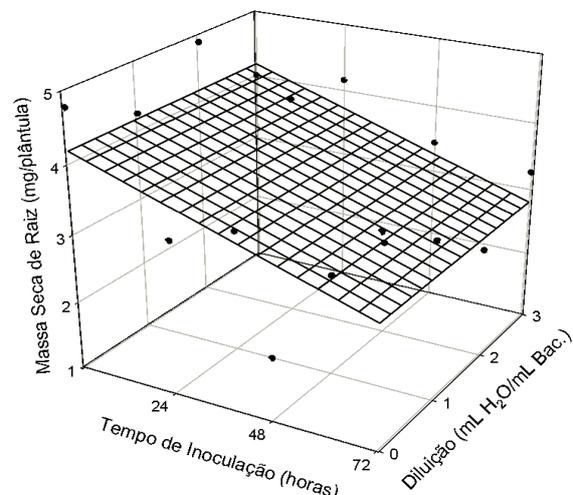
$$\text{CE} = 9,7797$$



$$\text{CR} = 7,9680$$



$$\text{MSPA} = 19,9346$$



$$\text{MSR} = 4,1940^{**} - 0,0192 * \text{TI}$$

$$P = 0,0142 \quad R^2 = 0,5991$$

\*  $p < 0,05$  e \*\*  $p < 0,01$

Observa-se também na Figura 1 que o tempo de inoculação de *A. brasilense* proporcionou efeito linear negativo na primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de emergência (IVE) e massa seca de matéria seca de raiz (MSR), ou seja, o aumento entre o tempo de

inoculação e a instalação dos testes, simulando o tempo entre a inoculação e o plantio, reduziu o potencial fisiológico da semente de milho doce. Isso ocorreu possivelmente pelas condições de armazenamento das mesmas, haja visto que foi armazenado em condições de laboratório, não ideais em termos de temperatura e umidade do ar, simulando a forma que o produtor armazenaria. Além disso, segundo Aragão *et al.* (2001), as sementes de milho doce apresentam rápida perda de viabilidade em curto período de tempo, por conterem elevados teores de açúcares solúveis e pouca reserva de amido no endosperma, associados à presença de pericarpo tenro. Nos demais parâmetros avaliados não foram verificados efeitos entre o tempo de inoculação e a instalação dos testes para a semente de milho doce.

Não foi verificada diferença entre os tratamentos e a testemunha (sem inoculação de *A. brasilense*) para os parâmetros germinação e IVE (Tabela 2). Os valores de emergência foram considerados satisfatórios e superiores aos encontrados por Aragão *et al.* (2001) e Guissem *et al.* (2002) trabalhando com sementes de milho doce. A PCG foi maior no tratamento com inoculação no tempo zero e diluição 1:2 (mL H<sub>2</sub>O / mL bactéria); entretanto, esses valores foram menores que os relatados na literatura (GUISCHEM *et al.*, 2002; SANTOS *et al.*, 2002) devido a PCG ter sido realizada ao quarto dia, enquanto nos demais trabalhos essa contagem foi realizada no sétimo dia. Observou-se também na Tabela 2 maiores valores de comprimento de epicótilo e raiz no tratamento que não recebeu inoculação (testemunha). Devido a isso, verificou-se também maior valor de massa de matéria seca de raiz (MSR) na testemunha, corroborando com os dados encontrados por Aragão *et al.* (2001) e Pinto Jr. *et al.* (2012); sendo três vezes maior que valores de MSR de alguns tratamentos.

**Tabela 2.** Valores médios de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), sementes anormais (SA), sementes não germinadas (SNG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento do epicótilo (CE), comprimento de raiz (CR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca de raiz (MSR) de milho doce em função do tempo de inoculação (horas) e diluição (mL H<sub>2</sub>O / mL bactéria) (Continua)

| Tempo (horas) | Diluição (mL mL <sup>-1</sup> ) | G      | PCG    | %     |       |        |
|---------------|---------------------------------|--------|--------|-------|-------|--------|
|               |                                 |        |        | SA    | SM    | E      |
| 0             | 0                               | 87,5 a | 34,0 b | 6,5 a | 6,0 a | 85,0 a |
|               | 1                               | 94,0 a | 34,0 b | 1,5 b | 4,5 a | 87,0 a |
|               | 2                               | 92,5 a | 48,0 a | 3,5 b | 4,0 a | 92,0 a |
|               | 3                               | 90,5 a | 41,0 b | 4,0 b | 5,5 a | 91,0 a |
| 24            | 0                               | 91,0 a | 39,0 b | 1,5 b | 7,5 a | 88,0 a |
|               | 1                               | 93,5 a | 14,0 b | 2,0 b | 4,5 a | 92,0 a |
|               | 2                               | 93,5 a | 24,0 b | 1,0 b | 5,5 a | 89,0 a |
|               | 3                               | 89,0 a | 37,0 b | 5,5 b | 5,5 a | 90,0 a |
| 48            | 0                               | 88,8 a | 33,0 b | 6,0 b | 5,3 a | 94,0 a |
|               | 1                               | 87,5 a | 37,0 b | 7,0 a | 5,5 a | 80,0 b |
|               | 2                               | 95,0 a | 35,0 b | 2,0 b | 3,0 a | 86,0 a |
|               | 3                               | 93,0 a | 29,0 b | 2,0 b | 5,0 a | 92,0 a |
| 72            | 0                               | 94,0 a | 38,0 b | 4,5 b | 1,5 a | 88,0 a |
|               | 1                               | 93,0 a | 28,0 b | 3,5 b | 3,5 a | 90,0 a |
|               | 2                               | 90,3 a | 17,0 b | 5,8 b | 3,9 a | 87,0 a |
|               | 3                               | 93,5 a | 25,0 b | 2,0 b | 4,5 a | 87,0 a |
| Testemunha    |                                 | 92,5 a | 20,0b  | 1,5 b | 6,0 a | 95,0 a |
| DMS           |                                 | 7,9    | 25,8   | 4,6   | 6,6   | 14,9   |
| CV (%)        |                                 | 4,1    | 39,3   | 62,4  | 65,8  | 8,0    |

**Tabela 2.** Valores médios de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), sementes anormais (SA), sementes não germinadas (SNG), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento do epicótilo (CE), comprimento de raiz (CR), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa de matéria seca de raiz (MSR) de milho doce em função do tempo de inoculação (horas) e diluição (mL H<sub>2</sub>O / mL bactéria) **(Conclusão)**

| Tempo (horas) | Diluição (mL mL <sup>-1</sup> ) | IVE    | CE<br>cm | CR     | MSPA<br>mg plântula <sup>-1</sup> | MSR   |
|---------------|---------------------------------|--------|----------|--------|-----------------------------------|-------|
| 0             | 0                               | 14,3 a | 9,5 b    | 8,1 b  | 20,9 a                            | 4,8 b |
|               | 1                               | 16,2 a | 9,9 b    | 7,7 b  | 20,5 a                            | 4,3 b |
|               | 2                               | 17,0 a | 10,4 b   | 9,0 b  | 13,3 b                            | 4,9 b |
|               | 3                               | 16,1 a | 9,3 b    | 7,9 b  | 23,7 a                            | 4,0 b |
| 24            | 0                               | 15,4 a | 10,2 b   | 8,0 b  | 16,1 b                            | 3,2 b |
|               | 1                               | 14,8 a | 8,9 b    | 8,4 b  | 16,0 b                            | 2,8 b |
|               | 2                               | 14,9 a | 8,7 b    | 7,8 b  | 18,4 b                            | 4,3 b |
|               | 3                               | 15,3 a | 10,6 b   | 8,1 b  | 19,7 a                            | 4,2 b |
| 48            | 0                               | 16,0 a | 10,8 b   | 8,9 b  | 19,6 a                            | 1,9 b |
|               | 1                               | 14,5 a | 10,1 b   | 7,3 b  | 24,8 a                            | 2,5 b |
|               | 2                               | 14,7 a | 10,0 b   | 7,2 b  | 24,2 a                            | 2,4 b |
|               | 3                               | 15,5 a | 10,4 b   | 8,8 b  | 23,8 a                            | 3,5 b |
| 72            | 0                               | 15,4 a | 9,3 b    | 8,3 b  | 20,5 a                            | 4,0 b |
|               | 1                               | 14,9 a | 9,6 b    | 7,7 b  | 21,2 a                            | 3,3 b |
|               | 2                               | 13,8 a | 9,4 b    | 7,0 b  | 17,4 b                            | 2,6 b |
|               | 3                               | 14,4 a | 9,4 b    | 7,5 b  | 18,8 b                            | 3,3 b |
| Testemunha    |                                 | 17,5 a | 13,7 a   | 17,0 a | 25,9 a                            | 9,1 a |
| DMS           |                                 | 3,7    | 1,5      | 1,8    | 6,6                               | 1,7   |
| CV (%)        |                                 | 11,6   | 7,2      | 10,3   | 15,5                              | 21,6  |

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

Os valores de germinação foram semelhantes aos encontrados por Guiscem *et al.* (2002) e maiores que os obtidos por Santos *et al.* (2002), ambos trabalhando com milho doce. Conceição *et al.* (2008) avaliaram o efeito da estimulação causada por bactérias diazotróficas endofíticas no desenvolvimento fisiológico de semente de milho utilizando *Herbaspirillum seropedicae* e não verificaram diferença significativa em relação à testemunha para germinação das sementes, corroborando com os dados da presente pesquisa. É oportuno ressaltar que a literatura não retrata sobre efeito positivo do grupo das bactérias diazotróficas endofíticas sobre a germinação de sementes de *Zea mays* L.

O maior IVE foi verificado na testemunha, entretanto, não diferiu dos tratamentos que receberam inoculação de *A. brasilense*. Esses valores foram maiores que os obtidos por Aragão *et al.* (2001) e Ávila *et al.* (2005), e semelhante aos obtidos por Guiscem *et al.* (2002).

Mesmo que a inoculação de *A. brasilense* não tenha conferido efeito na qualidade fisiológica da semente de milho doce, recomenda-se pesquisas de campo, pois ressalta-se que o presente trabalho foi realizado em condições de laboratório e há relatos que esse inoculante tem mostrado efeito na produção final de outras gramíneas, como milho comum e pastagem (ANTUNES Jr. *et al.*, 2011; BRACCINI *et al.*, 2012).

## CONCLUSÃO

A inoculação de *Azospirillum brasilense* na dose de 4 mL kg<sup>-1</sup> de semente, em condições de laboratório, não beneficia a germinação e vigor das sementes de milho doce, além disso, causa redução na primeira contagem de germinação, índice de velocidade de emergência e massa de matéria seca de raiz quando a inoculação é realizada dias antes do plantio.

## AGRADECIMENTOS

À Syngenta Brasil pela doação da semente.

## REFERÊNCIAS

- ANTUNES Jr., E.J. *et al.* Produção de *Brachiaria brizantha* semeada com uma semeadora-adubadora de plantio direto. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v. 2, n. 1, p. 100-115, 2011.
- ARAGÃO, C.A. *et al.* Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 1, p. 43-48, 2003.
- ARAGÃO, C.A. *et al.* Fitorreguladores na germinação de sementes e no vigor de plântulas de milho super doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 62-67, 2001.
- ÁVILA, M.R. *et al.* Testes de laboratório em sementes de canola e correlação com a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 62-70, 2005.
- BRACCINI, A.L. *et al.* Seed inoculation with *Azospirillum brasilense*, associated with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 58-64, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 365p.
- CARMO, M.S. *et al.* 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, supl. 1, p. 223-231, 2012.
- CASSÁN, F. *et al.* *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 45, n. 1, p. 28-35, 2009.
- CONCEIÇÃO, P.M. *et al.* Recobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 4, p. 545-548, 2008.
- GUISCHEM, J.M.; NAKAGAWA, J.; ZUCARELI, C. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce BR 400 (BT) em função do teor de água na colheita e da temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 220-228, 2002.

---

KRZYZANOWSKI, F.C. *et al.* Volume de calda com diferentes produtos para o tratamento de semente de soja e seu efeito sobre a qualidade fisiológica. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 28., 2006, Uberaba. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2006. p. 470-472.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseado no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: Abrates, 1999. p. 1-24.

OLIVEIRA, A.S. *et al.* Condicionamento osmótico em sementes de milho doce submetidas ao armazenamento. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 38, n. 4, p. 444-448, 2008.

PINTO Jr., A.S. *et al.* Qualidade de sementes de milho oriundas da inoculação combinada de três estirpes de *Azospirillum brasilense*. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Sete Lagoas: Embrapa, 2012. p. 385-390.

SANTOS, P.M. *et al.* Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho-doce pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 91-96, 2002.

SANWO, M.M.; DEMASON, D.A. Gibberellic acid (GA3)-induced enhancement of  $\alpha$ -amylase activity in the aleurone of shrunken-2 maize kernels. **American Journal of Botany**, New York, v. 81, n. 8, p. 987-996, 1994.

SCHUCH, J.S. *et al.* Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de arroz com diferentes graus de umidade e tratadas com fungicida. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 45-53, 2006.

TEIXEIRA, F.F. *et al.* Avaliação da capacidade de combinação entre linhagens de milho doce. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 483-488, 2001.

