

**PAULA DE FREITAS SILVA**

**Análise nutricional de plantas de milho inoculada com  
bactérias promotoras de crescimento**

**UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2013**

**PAULA DE FREITAS SILVA**

**Análise nutricional de plantas de milho inoculada com  
bactérias promotoras de crescimento**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso 2 apresentado à  
Universidade Federal de Uberlândia como parte das  
exigências do curso de Agronomia.

Orientador:  
Prof. Dr. Adão Siqueira Ferreira

**UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2013**

**PAULA DE FREITAS SILVA**

**Análise nutricional de plantas de milho inoculada com  
bactérias promotoras de crescimento**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso 2 apresentado à  
Universidade Federal de Uberlândia como parte das  
exigências do curso de Agronomia.

Aprovada pela banca em 27 de Setembro de 2013

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriane de Andrade Silva ICIAG- UFU

Membro da banca

Isabel Dayane Queiroz

Membro da banca

Prof. Dr. Adão Siqueira Ferreira ICIAG - UFU

orientador

## **Sumário**

RESUMO .....	5
1. INTRODUÇÃO .....	6
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1-LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	14
3.2-OBTENÇÃO DOS ISOLADOS .....	14
3.3-OS ISOLADOS .....	14
3.4-INSTALAÇÃO DO PROJETO NA CASA DE VEGETAÇÃO .....	14
3.5-ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
4.1-TEORES DE NUTRIENTE NA PARTE AÉREA DO MILHO .....	16
4.2- RELAÇÃO NUTRICIONAL ENTRE OS NUTRIENTES .....	19
5. CONCLUSÕES .....	22
6. REFERÊNCIAS.....	23
Anexos .....	31

## RESUMO

SILVA, P. F. **Análise nutricional de plantas de milho inoculada com bactérias promotoras de crescimento.** 2012. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Uberlândia. Orientador: Prof. Dr. Adão Siqueira Ferreira.

O milho é uma das principais culturas produzidas no mundo, e sabe-se que para atingir elevadas produtividades é necessária a utilização de grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados e fosfatados. Assim, para diminuir o uso desses fertilizantes, as plantas se associam a bactérias promotoras de crescimento, que auxiliam nos processos de solubilização de fosfato e fixação biológica de nitrogênio. Portanto, objetivou-se com esse trabalho, analisar a eficiência da absorção de nutrientes (Nitrogênio, Potássio e Fósforo) por plantas de milho em resposta à inoculação de 21 isolados de bactérias promotoras de crescimento, sob condições de casa de vegetação. O experimento, realizado na casa de vegetação do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, consistiu de 23 tratamentos, sendo 21 isolados e duas testemunhas, com duas repetições cada, em duas épocas diferentes. Trinta dias após o plantio, as plantas foram separadas em raiz e parte aérea, onde a parte aérea foi seca em estufa e posteriormente foi determinado os teores de N, P e K. O experimento mostrou que existem diferenças nutricionais da inoculação de bactérias promotoras de crescimento na cultura do milho. Os isolados 711, 712, Rec 8, LGI 16b se destacaram quanto aos teores de nitrogênio, potássio e fósforo na parte aérea do milho. A inoculação dos isolados de bactérias muda a relação N/K, N/P e P/K na cultura do milho.

Palavras-chave: milho, bactérias, nutrição de plantas, nitrogênio, fósforo, potássio.

## 1. INTRODUÇÃO

O milho é uma gramínea da família Poaceae (Borém, 1999) e é considerada uma das mais importantes culturas tropicais, sendo uma importante fonte de calorias para milhares de pessoas no México, América do Sul e Central (Pedrinho et al., 2010). Esse cereal é de suma importância econômica no Brasil, pois é utilizado na alimentação humana, animal e na indústria, além de ser um importante produto de exportação (Agrianual, 2004). Esta cultura está entre as mais exigentes em fertilidade de solo, principalmente em relação ao nitrogênio (Amado; Milniczuk; Aita, 2002; Sousa; Lobato, 2004), e tem sido identificada como capaz de se beneficiar do processo de fixação biológica de nitrogênio, em associação às bactérias diazotróficas (Gomes, 2009).

Atualmente, para a produção agrícola, são exigidas grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados e fosfatados, e para a produção dos mesmos, é exigida uma alta quantidade de energia. Além disso, a lixiviação destes produtos acarreta em um elevado impacto ambiental. Para diminuir a quantidade desses fertilizantes e otimizar alguns processos naturais, as plantas tem suas necessidades parcialmente supridas por processos como a fixação biológica de nitrogênio e a solubilização de fosfato (Pedrinho et al., 2010).

Estudos de fixação biológica de nitrogênio em plantas não-leguminosas, como milho, arroz, cana-de-açúcar, banana e abacaxi, tiveram início na década de 1960, e mostraram associações com bactérias fixadoras de nitrogênio sem a presença de nódulos. Nestas plantas, a colonização ocorre na superfície e/ou interior das raízes, bem como no interior da parte aérea, por bactérias de solo, principalmente *Azospirillum*, *Herbaspirillum* e *Gluconacetobacter*, que fixam nitrogênio do ar e disponibilizam as plantas (Zilli, 2007). Além disso, essas bactérias também são capazes de produzir hormônios de crescimento de plantas, a exemplo de auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e ácido abscísico, os quais são fundamentais na regulação do crescimento de plantas (Raven et al., 2001).

Devido a grande diversidade de bactérias benéficas às plantas, existe a necessidade de isolamento e caracterização de isolados com capacidade de promover o crescimento das plantas. Além disso, os estudos de nutrição de plantas em relação aos principais nutrientes (N, P e K) são de grande importância também na seleção de isolados de bactérias. Assim, o objetivo desse trabalho foi analisar a eficiência da absorção de nutrientes (N, K e P) por

plantas de milho em resposta à inoculação de 21 isolados de bactérias promotoras de crescimento, sob condições de casa de vegetação.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O milho (*Zea mays*) é a planta mais importante comercialmente com origem nas Américas. Os primeiros registros do seu cultivo datam de cerca de 5000 anos, e acredita-se que sua origem tenha sido no México ou sudoeste dos Estados Unidos (Godoy, 2002). É uma planta que pertence à família Poaceae. Pode chegar a uma altura de 2,5 metros, sendo que a espiga costuma a nascer na metade da altura da planta. Cada espiga contém cerca de duzentos a quatrocentos grãos. Os grãos são altamente nutritivos, ricos em carboidratos e vitaminas E, B1 e B2, podendo ser utilizado na alimentação animal e humana, além de ser utilizado na produção de óleo vegetal e etanol (Bergerot, 2004).

O milho é uma planta de grande importância econômica e é utilizada de diversas maneiras, desde a alimentação humana e animal até a indústria de alta tecnologia, sendo a utilização em grãos para alimentação animal a maior parte do seu consumo, cerca de 70%. Em algumas regiões, o milho é fonte de energia e ingrediente básico na alimentação de muitas pessoas, como no nordeste brasileiro. Por seus diversos usos e pelo aspecto social que representa, o milho é um dos principais produtos do setor agrícola brasileiro (EMBRAPA, 2002). A cadeia produtiva do milho é uma das mais importantes no agronegócio brasileiro, correspondendo a cerca de 37% da produção nacional de grãos. Junto com a soja, o milho é de suma importância para os setores avícolas e suínícolas, que são setores geradores de receita para o Brasil (Caldarelli et al., 2012).

O cultivo do milho concentra-se principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. Segundo a Conab, a área cultivada com milho em 2012/13 foi cerca de 15.905 milhões de hectares, e a produtividade foi de 81,344 milhões de toneladas. O Brasil está em terceiro lugar na produção mundial, atrás da China e Estados Unidos (USDA, 2013).

A cultura do milho remove grandes quantidades de nitrogênio do solo, o que acarreta no uso de adubações nitrogenadas de cobertura para completar a quantidade suprida pelo solo, para obtenção de elevadas produtividades. Já as exigências do milho em fósforo são mais baixas em relação à exigência de nitrogênio, mas as doses recomendadas são elevadas uma vez que o fósforo fica fortemente adsorvido ao solo e não pode ser totalmente utilizado pela cultura. O potássio por sua vez, depois do nitrogênio, é o elemento

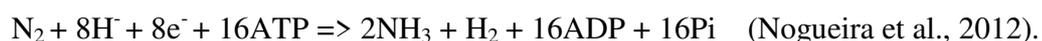
mais absorvido pelo milho, porém não é muito translocado para os grãos, somente 30% (EMBRAPA, 2002). Para produzir 10 toneladas de grãos, o milho extrai cerca de 220 kg/ha de nitrogênio, 45 kg/ha de fósforo e 160 kg/ha de potássio. Desse total extraído pela planta, cerca de 85% do fósforo e 77% do nitrogênio são translocados para os grãos (Coelho e França, 1995), o que resulta em perda desses nutrientes, uma vez que não voltam para o solo ao término do ciclo da cultura, o que leva a elevados custos com fertilizantes, além dos riscos de poluição ambiental, especialmente em condições de intensa precipitação e altas doses de adubação. Além disso, o Brasil importa grande parte dos fertilizantes utilizados, cerca de 73% da uréia, 100% do DAP (Di-Amônio-Fosfato) e 90% do cloreto de potássio (MINISTÉRIO DA FAZENDA, 2011).

A necessidade cada vez maior de buscar novas alternativas para otimizar o crescimento e desenvolvimento da planta, reduzindo-se os gastos com fertilizantes e os riscos de poluição ambiental. Uma dessas alternativas é a utilização de bactérias promotoras de crescimento. Em particular, a utilização de bactérias diazotróficas endofíticas apresenta um grande potencial para a redução da dependência de fertilizantes nitrogenados (Conceição et al., 2009). Estudos estão sendo realizados sobre utilização de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP), visando melhorar o rendimento da cultura do milho, assim como a economia de fertilizantes e redução de danos ao meio ambiente.

Algumas bactérias que colonizam o interior de plantas exercendo efeitos positivos sobre as mesmas são denominadas bactérias endofíticas promotoras de crescimento (Kuss et al., 2007). Esses microrganismos entram na planta hospedeira por meio de aberturas naturais ou injúrias (Ceriglioli, 2006). Essas bactérias estimulam o crescimento de plantas, promovem a fixação biológica do N e aumentam a resistência a doenças (Reis et al., 2000; Bashan et al., 2004; Sala et al., 2005). O estímulo no crescimento pode-se dar de forma direta e indireta. De modo direto, a bactéria produz hormônios semelhantes aos produzidos pelas plantas, reguladores de crescimento, que estimulam o desenvolvimento das plantas, alterando a morfologia das raízes, que possibilita a exploração do solo em áreas maiores, melhorando a absorção de nutrientes (Bashan & Holguin, 1997; Zaided et al., 2003). Esses hormônios podem ser o ácido 3-indolacético, AIA (Crozier et al., 1988), citocininas

(Cacciari et al., 1989), giberelinas (Bottini et al., 1989) e indóis (Radwan et al., 2002). De forma indireta, as bactérias reduzem a população de microrganismos patogênicos às plantas por meio da produção de substâncias antagônicas a estes (produção de sideróforos ou antibióticos), realizando assim um controle biológico (Hallmann et al., 1997; Asghar et al., 2002). Além disso, algumas dessas bactérias possuem a capacidade de melhorar a disponibilização de nutrientes para as plantas aumentando sua absorção pelas raízes (Hallmann et al. 1997; Lazarovits & Nowak, 1997).

Em relação ao nitrogênio, apenas algumas espécies de microrganismos possuem o complexo enzimático nitrogenase, capaz de transformar o N<sub>2</sub> atmosférico pouco reativo em amônia, que é posteriormente assimilada em aminoácidos e proteínas. Esse processo é então denominado fixação biológica de nitrogênio (FBN) (Neves e Rumjanek, 1998). O complexo enzimático nitrogenase é formado basicamente por duas metaloproteínas, a ferro proteína e a molibdênio-ferro proteína, que catalisam, na presença de ATP, a redução do nitrogênio atmosférico a amônia (Kim e Rees, 1994; Burris, 1991). A redução do N<sub>2</sub> atmosférico pela nitrogenase envolve as reações de redução da ferro proteína por transportadores de elétrons; transferência de elétrons da ferro proteína para a molibdênio-ferro proteína na presença de ATP e a transferência de elétrons utilizados para reduzir N<sub>2</sub> e H<sup>+</sup> a NH<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>, segundo a reação:



Apesar da grande quantidade de N<sub>2</sub> na atmosfera, os organismos eucariotos (plantas e animais) não conseguem converter ou reduzir enzimaticamente o nitrogênio atmosférico em amônia, somente uma pequena quantidade de organismos procariotos consegue essa transformação, podendo então o nitrogênio ser incorporado, na forma de amônia, para o crescimento e manutenção das células. Estes organismos que conseguem fixar o nitrogênio são denominados diazotróficos (Baldani et al., 1999). Reis et al. (2000) e Riggs et al. (2001) relatam que bactérias diazotróficas endofíticas têm sido isoladas de várias espécies de gramíneas e segundo Chelius & Triplett (2001), uma grande diversidade dessas bactérias colonizam plantas de milho.

Espécies dos gêneros *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Gluconacetobacter*, *Burkholderia* e *Azoarcus*, possuem elevado potencial de fixação de nitrogênio (Dobereiner, 1992; Yamada et al., 1997; Baldani, 1996; Reinhold-Hurek, et al., 1993) e são os mais encontrados em milho, tanto no interior quanto no exterior das plantas. Estudos indicando a associação de bactérias diazotróficas com plantas da família Poaceae tiveram início na década de 50 com contribuições de pesquisadores brasileiros (Döbereiner, 1959).

Além da fixação biológica de nitrogênio, as bactérias também auxiliam no crescimento das plantas por meio da solubilização de fosfato. O fósforo é um nutriente muito importante no metabolismo das plantas, pois é constituinte dos ácidos nucleicos, fosfolipídios e armazenamento e transferência de energia na planta na forma de ATP (Fornasier, 1992).

As maiores reservas de fósforo estão nas rochas e outros minerais primários formados durante a era geológica (Rodríguez e Fraga, 1999). É abundante nos solos na forma orgânica e inorgânica, sendo na forma orgânica componente de proteínas, aminoácidos e ácidos graxos, que devem ser mineralizados para absorção pelas plantas (Fornasier, 1992; Rodríguez e Fraga, 1999). Apesar de sua abundância nos solos, o fósforo forma compostos insolúveis com alumínio, ferro e matéria orgânica em solos ácidos, e forma reserva solúvel ligado ao cálcio e magnésio em solos alcalinos. Portanto, mesmo presente em grandes quantidades no solo, o fósforo se encontra de forma indisponível para absorção das plantas (López-Bucio et al., 2002). Devido as frequentes adubações com fertilizantes fosfatados, os solos agrícolas contém grande quantidade de fósforo acumulado, porém indisponível para as plantas (Rodríguez e Fraga, 1999). Uma solução para aproveitar esse fosfato de rochas seria a utilização de processos microbiológicos (Zapata e Amann, 1995).

Vários estudos têm sido feitos para examinar a habilidade de diversas espécies bacterianas em solubilizar compostos de fosfato inorgânico, entre os gêneros com essa capacidade estão *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* e *Erwinia* (Rodríguez e Fraga, 1999). Um gênero muito estudado é o *Azospirillum*, que segundo Schloter & Hartmann (1998), libera hormônios semelhantes aos produzidos pelas plantas, promove o aumento na absorção de nutrientes e é diazotrófico, o que causa um aumento no crescimento das plantas. O gênero

*Azospirillum* representa um grupo predominante nos endófitos facultativos, ou seja, colonizam tanto o interior quanto à superfície das raízes de gramíneas forrageiras e cereais (DÖBEREINER; BALDANI, 1992). É um gênero de distribuição ecológica bastante ampla, colonizando plantas crescidas em diferentes habitats (DÖBEREINER et al., 1976; MAGALHÃES et al., 1979; FREITAS et al., 1981; DÖBEREINER; PEDROSA, 1987).

Diferentes espécies de *Azospirillum* colonizam diferentes espécies de plantas, *Azospirillum brasiliense* ocorre associado a trigo, cevada, aveia, arroz e centeio (Döbereiner; De-Polli, 1980; Rocha; Baldani; Döbereiner, 1981), já *Azospirillum canadense* sp., foi isolado da rizosfera de milho no Canadá, e além de realizar a fixação biológica de nitrogênio, produz AIA (Mehnaz; Weselowski; Lazarovits, 2007).

Essas bactérias quando associadas a gramíneas garantem aumentos de 5 a 30% na produção (Baldani et al., 1983; Okon; Labandera-Gonzalez, 1994). Muñoz-Garcia et al. (1991) constataram que a inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasiliense* aumentou a matéria seca de raízes de 54 a 86% e de 23 a 64% no peso seco da parte aérea.

O gênero *Herbaspirillum* é composto por bactérias endofíticas, algumas fixadoras de N, produtoras de hormônios semelhantes aos produzidos pelas plantas, que coloniza o tecido de diversas espécies, principalmente gramíneas, como milho, sorgo e arroz (BALDANI et al., 1986; BODDEY et al., 1995; OLIVARES et al., 1996). A primeira espécie identificada foi o *Herbaspirillum seropedicae* (Baldani et al., 1986), posteriormente foram incluídos outros membros ao gênero, como *Herbaspirillum rubrisubalbicans* (Baldani et al., 1996), *Herbaspirillum frisingense* (Kirchhof et al., 2001) e *Herbaspirillum lusitanum* (Valverde et al., 2003). A colonização de gramíneas por esse gênero ocorre por meio da adesão da bactéria à superfície da planta, seguida de proliferação principalmente de raízes secundárias e ferimentos. Uma vez no interior da planta, elas podem espalhar-se por todos os tecidos, via xilema (RONCATO-MACCARI et al., 2003; HUREK et al., 1994; JAMES; OLIVARES, 1998). *Herbaspirillum rubrisubalbicans* tem sido encontrada em associação com cana-de-açúcar (Olivares et al., 1996) e em capim elefante (Reis et al., 2000), abacaxi e banana (Cruz et al., 2001). Bastián et al. (1998) constataram a presença de AIA e giberelinas em culturas de *Herbaspirillum seropedicae*, e Radwan et al. (2002) constataram a produção de indóis por estirpes de *Herbaspirillum*.

O gênero *Burkholderia* é constituído por 37 espécies, sendo somente 9 capazes de fixar N atmosférico. Apresentam ampla distribuição, se associando com plantas não leguminosas e formando nódulos em leguminosas (GOMES, 2009). A inoculação de *Burkholderia brasiliensis* em plantas de arroz aumentou em 69% a biomassa da planta e também contribuiu com 31% no nitrogênio total (Baldani et al., 2000).

As bactérias promotoras de crescimento em plantas, sejam elas diazotróficas, solubilizadoras de fosfato e/ou produtoras de hormônios de crescimento, demonstram grande potencial em reduzir a dependência de fertilizantes sintéticos, que podem comprometer a qualidade da água e do ar quando usados de maneira inadequada. Além disso, as bactérias promotoras de crescimento podem melhorar a absorção de nutrientes pelas plantas, aumentando a biomassa vegetal e ganhos nutricionais das plantas.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1-LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO**

O experimento foi realizado em duas épocas, sendo a primeira de Setembro de 2010 a fevereiro de 2011 e a segunda em março de 2011, no laboratório de Fitopatologia (LAFIP) e na casa de vegetação da Universidade Federal de Uberlândia. O mesmo procedimento utilizado para obtenção, cultivo e instalação dos experimentos foi realizado nas duas épocas.

#### **3.2-OBTENÇÃO DOS ISOLADOS**

De um total de 50 isolados, 21 foram escolhidos para inoculação nas sementes de milho, sendo que alguns destes foram fornecidos pela Embrapa e outros faziam parte da coleção do Laboratório de Microbiologia Agrícola no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia.

#### **3.3-OS ISOLADOS**

Os isolados utilizados foram: 711, 705, LGI-P 08, 704, 704 B, 710, AZOS, 712, LGI16, 706, 706B, NOVO 09, NOVO 04, REC14, REC8, 708, P.FLUO do Laboratório de Microbiologia Agrícola do ICIAG, e BR11001, BR11140, BR11192, BR11175 da Embrapa (Agrobiologia). Os isolados das culturas puras foram transferidos para eppendorfs contendo meio líquido DYGS e depois incubados na DBO a 32° C por 48 horas. Após esse período, os isolados foram armazenados no refrigerador para conservação.

#### **3.4-INSTALAÇÃO DO PROJETO NA CASA DE VEGETAÇÃO**

Em 23 copos descartáveis, foram colocadas 5 sementes de milho (lavadas para retirar o fungicida) em cada copo. Os copos foram numerados de 1 a 23, representando os 21 isolados (os números 22 e 23 representam o controle). A solução de sacarose (10 g de sacarose; 100 mL de água destilada) foi preparada com o intuito de auxiliar o crescimento dos isolados, sendo colocados 5 mL de sacarose em cada copo descartável. Depois, foram colocados 2 mL de cada isolado em seu respectivo copo, sendo que os copos 22 e 23 não receberam nenhum isolado, pois representam os tratamentos controle.

O solo foi coletado em novembro de 2010 na fazenda Capim Branco da Universidade Federal de Uberlândia, no período da manhã. Na área da coleta havia plantação de milho anteriormente e também havia sido feito a correção do solo com calcário. O solo foi peneirado e distribuído em 46 vasos com 1 kg de solo em cada vaso. Para cada tratamento foi utilizado duas repetições. Em cada vaso foi adicionado uma solução de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (31,58 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  em 4,8 L de água destilada) para nutrição do solo, exceto para o tratamento controle (sem adição de nutriente). Cada vaso foi irrigado com 100 mL da solução. Nos experimentos, um outro tratamento controle com adição da solução de fosfato de potássio foi usado, porém sem isolados.

As sementes de milho inoculada com isolados e as sem inoculação foram plantadas a 2 cm de profundidade no vaso. Cada vaso foi plantada 5 sementes. A distribuição das sementes foi feita de acordo com a numeração dos copos correspondentes a cada vaso. As sementes foram plantadas dia 10 de fevereiro de 2011 na primeira época, e dia 18 de março de 2011 na segunda época, sendo regadas duas vezes ao dia. Após 10 dias, foram arrancadas as duas plantas que apresentavam menores portes, sendo deixadas 3 plantas por vaso.

As plantas foram cultivadas por 30 dias, e após esse período foram arrancadas, sendo separadas a parte aérea das raízes. A parte aérea foi seca em estufa de ventilação forçada a  $60^\circ\text{C}$  por 48h. Após, a massa seca foi pesada em balança de precisão. A massa seca foi triturada em moinho de aço inox e, em seguida, as análises de teores de N, K e P foram realizadas conforme descrito por Tedesco et al. (1995). Os valores de nutrientes foram expressos em miligrama por grama de massa seca da parte aérea do milho.

### **3.5-ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram submetidos à análise de variância tendo como fontes de variação os tratamentos e época do ensaio experimental (Ver anexos) e as médias foram comparadas pelo Teste T-Student a 5 % de significância.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1-TEORES DE NUTRIENTE NA PARTE AÉREA DO MILHO

Os resultados mostram que houve diferença no teor de N (mg N/g MS) em resposta a inoculação de bactérias promotoras de crescimento (figura 1). O tratamento controle sem nutriente apresentou altos teores de N. O isolado 711 se destacou em relação aos demais isolados, com valores semelhantes ao controle 2. Os isolados 704, Rec 14b, BR11080 e 705 apresentaram os menores teores de N, sendo inclusive diferentes dos teores de N nas plantas inoculadas com os isolados 712, Rec 8, LGI 16B, BR11192, 714 B, BR11140. Isso pode ter ocorrido devido a uma competição das bactérias com a planta pelo nitrogênio ou as bactérias precisam de mais nitrogênio no solo para realizar a fixação com mais eficiência. No controle 2 pode ter ocorrido um menor crescimento da planta, sendo suas células menores, concentrando mais o teor de nitrogênio.

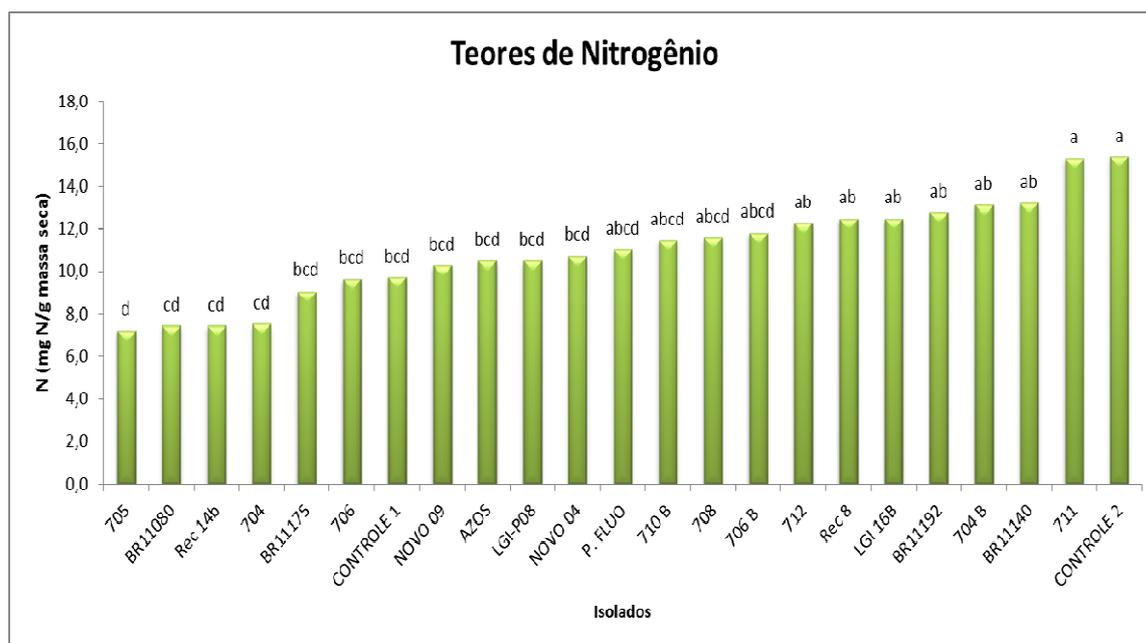


Figura 1- Teor de nitrogênio na parte aérea do milho em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento. Letras diferentes entre isolados indicam diferença pelo Teste T a 5% de probabilidade.

Os efeitos da inoculação de bactérias diazotróficas têm sido avaliados em muitos trabalhos e mostram que a inoculação depende de vários fatores, incluindo tipo de solo usado nos ensaios. Ferreira et al. (2013) observaram aumentos significativos da massa seca de plantas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* em dois tipos de solo e que a

resposta depende também da adição de macro e micronutrientes. Guimarães et al. (2003) não observaram diferenças significativas no N-total em plantas de arroz inoculadas com bactérias diazotróficas aos 40 dias após o transplântio. Diferenças só foram observadas a partir de 70 dias após o transplântio. Canuto et al. (2003) observaram que plantas de cana inoculadas com bactérias diazotróficas endofíticas, após 180 dias de crescimento em vasos, apresentaram maior teor de N nos tecidos. Hungria et al. (2010) observaram um aumento nos teores de N tanto na parte aérea das plantas quanto nos grãos.

A figura 2 mostra que houve um aumento significativo nos teores de P na parte aérea quando da inoculação de 8 isolados, com destaque para os isolados P. FLUO e BR11080 em relação aos controles. Isso mostra que os isolados se diferenciam quanto à absorção e valor nutricional de P na cultura do milho. O P interfere em diversos processos metabólicos das plantas, como a fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão celular, entre outros, é um elemento indispensável para o crescimento e produção vegetal. Como o fósforo é um nutriente pouco móvel no solo por estar firmemente retido, é de fundamental importância o estudo de bactérias que promovam sua solubilização para melhor aproveitamento pelas plantas.

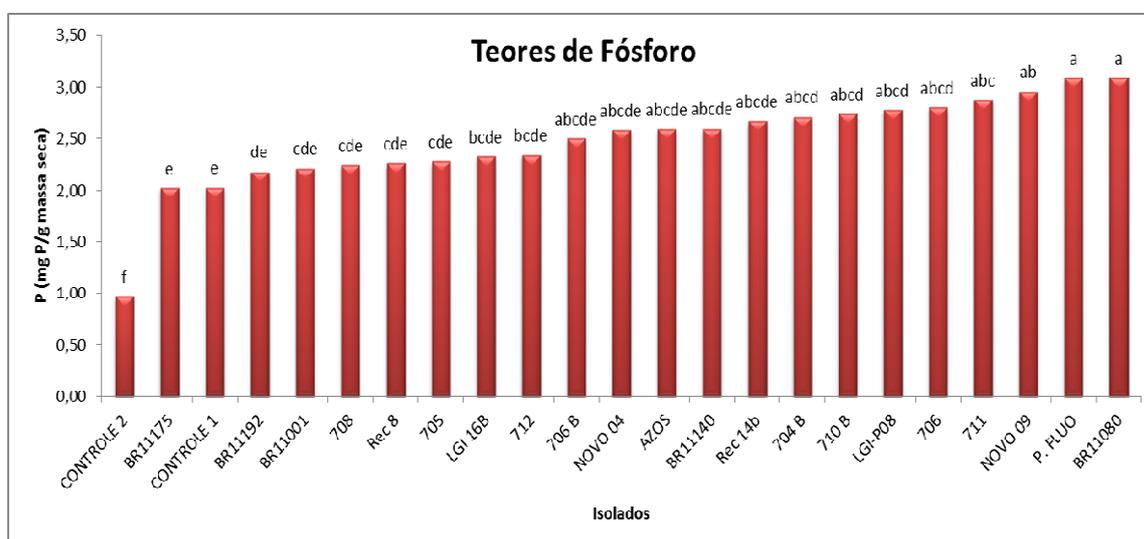


Figura 2- Teor de fósforo na parte aérea do milho em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento. Letras diferentes entre isolados indicam diferença pelo Teste T a 5% de probabilidade.

Dados de literatura mostram que as plantas cultivadas têm diferentes respostas à inoculação de bactérias promotoras de crescimento. Pedrinho et al. (2010) observaram que

27 isolados de bactérias diazotróficas obtidas das raízes de plantas de milho saudáveis tinham a capacidade de solubilizar fósforo. Barretti et al. (2008) observaram que plantas de tomate inoculadas com bactérias endofíticas apresentaram um aumento dos teores de P na parte aérea das plantas.

Em relação aos teores de K, dois isolados de bactérias promotoras de crescimento (711 e BR11140) se destacaram em relação aos controles (1 e 2) (Figura 3). Apesar de não ser um elemento constituinte de nenhuma molécula orgânica no vegetal, o potássio contribui em várias atividades bioquímicas, sendo um importante ativador de enzimas, regulador da pressão osmótica (entrada e saída de água da célula) e abertura e fechamento de estômatos. É importante também na fotossíntese, na formação de frutos e resistência a doenças e ao frio.

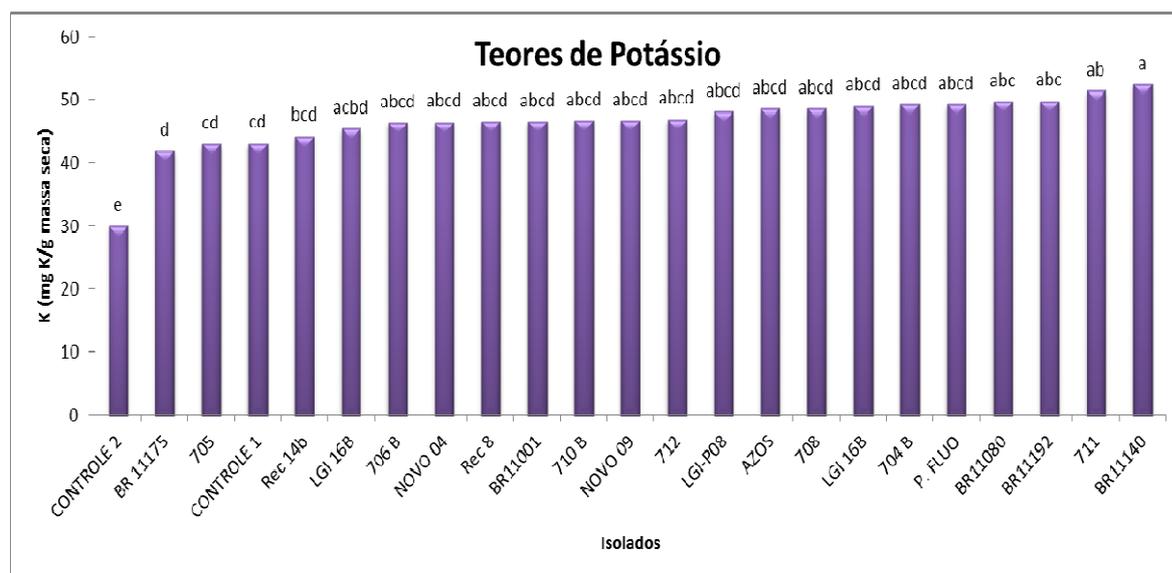


Figura 3- Teor de potássio na parte aérea do milho em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento. Letras diferentes entre isolados indicam diferença pelo Teste T a 5% de probabilidade.

Barretti et al. (2008) observaram que plantas de tomate inoculadas com bactérias endofíticas apresentaram aumento nos teores de potássio na parte aérea das plantas. Hungria et al. (2010) também observaram aumento nos teores de potássio na parte aérea do milho e nos grãos.

#### 4.2- RELAÇÃO NUTRICIONAL ENTRE OS NUTRIENTES

Os resultados mostram que a relação N/K foi alterada sob as condições do experimento realizado (Figura 4). O controle 2, sem adição de nutriente, apresentou uma maior relação N/K. Houve diferença significativa nos teores de N/K entre os isolados, sendo que os isolados 712, Rec 8, 704 B e 711 se destacaram em relação a 4 isolados de menores médias da relação N/K (Figura 4).

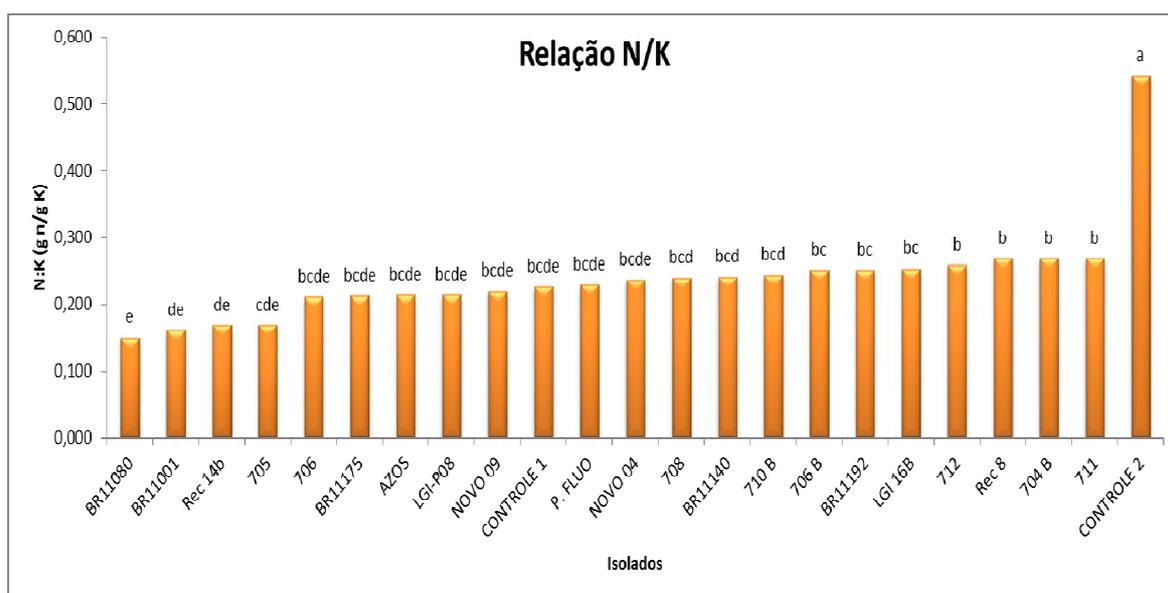


Figura 4- Relação dos teores de nitrogênio e potássio na parte aérea do milho em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento. Letras diferentes entre isolados indicam diferença pelo Teste T a 5% de probabilidade.

Novamente o controle 2 apresentou altos valores da relação N/P, com valores 2,49 vezes maiores em relação aos demais tratamentos. Nesta relação observou-se um destaque com a inoculação dos isolados Rec 8, BR11192 e LGI 16b, quando comparado com os valores de BR11080, Rec 14b e 705 (Figura 5).

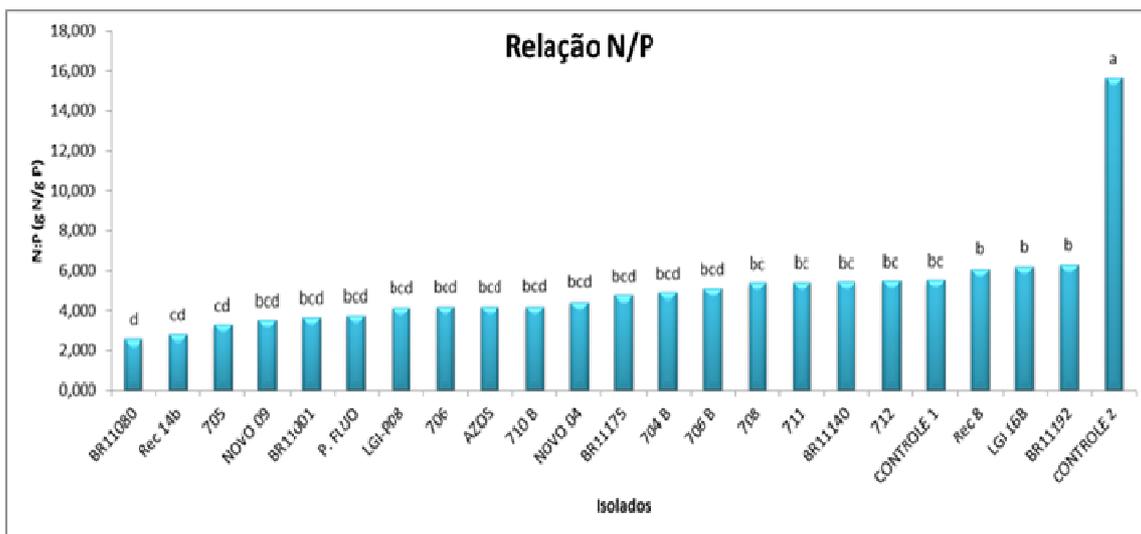


Figura 5- Relação dos teores de nitrogênio e fósforo na parte aérea do milho em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento. Letras diferentes entre isolados indicam diferença pelo Teste T a 5% de probabilidade.

Os valores da relação P/K foram os menores comparados às outras duas relações, mostrando que existe uma grande quantidade de potássio em relação aos teores de P (figura 6). Os isolados P. FLUO e NOVO 09 tiveram um aumento significativo da relação P/K. Isso mostra que houve um aumento da absorção de P por unidade de K na parte aérea das plantas.

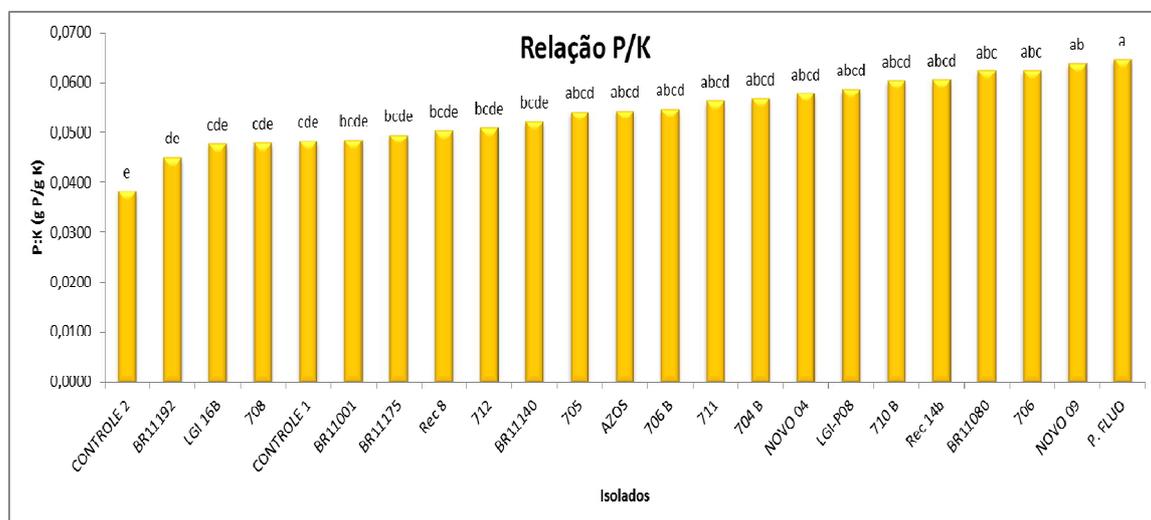


Figura 6- Relação dos teores de fósforo e potássio na parte aérea do milho em resposta à inoculação de bactérias promotoras de crescimento. Letras diferentes entre isolados indicam diferença pelo Teste T a 5% de probabilidade

Essas relações são importantes para o conhecimento da interação entre os nutrientes e para observação da interferência dos isolados sobre essas relações nutricionais. Observa-se que quando na presença de isolados que obtiveram resultados positivos quanto ao aumento nos teores dos nutrientes na parte aérea, tem-se uma relação entre os nutrientes maior, como é o caso do isolado 711 por exemplo.

## **5. CONCLUSÕES**

- 1- O experimento mostrou que existem diferenças nutricionais da inoculação de bactérias promotoras de crescimento na cultura do milho.
- 2- Os isolados 711, 712, Rec 8, LGI 16b se destacaram quanto aos teores de nitrogênio, potássio e fosforo na parte aérea do milho.
- 3- A inoculação dos isolados de bactérias muda a relação N/K, N/P e P/K na cultura do milho.

## 6. REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL – **Anuário da Agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativa, 2004. 200p.
- AMADO, T. J. C.; MILNICZUK, J.; AITA, C. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.241-248, 2002.
- ASGHAR, H.N.; ZAHIR, Z.A.; ARSHAD, M. ; KHALIQ, A. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica jucea* L. **Biol Fertil Soil**, v. 35, p. 231-237, 2002.
- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D.; SELDIN, L.; DOBEREINER, J. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 36, p. 86-93, 1986.
- BALDANI, J.I.; AZEVEDO, M.S.; REIS, V.M.S.; TEIXEIRA, K.R.; OLIVARES, F.L.; GOI, S.R.; BALDANI, V.L.D. & DÖBEREINER, J. Fixação biológica de nitrogênio em gramíneas: Avanços e aplicações. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E. & CARVALHO, J.G., eds. Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas. Viçosa, MG, SBCS/Lavras, UFLA/DCS, p.621-666, 1999.
- BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 29, p. 284-299, 1983.
- BALDANI, V.L.D. Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp. no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e, ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro: UFRRJ,1996.
- BARRETI, P. B.; SOUZA, R. M.; POZZA, A. A. A.; POZZA, E. A.; CARVALHO, J. G.; SOUZA, J. T. Aumento da eficiência nutricional de tomateiros inoculados com bactérias endofíticas promotoras de crescimento. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1541-1548, 2008.

BASHAN, Y. & HOLGUIN, G. Azospirillum-plant relationships: Environmental and physiological advances (1990-1996). **Can. J. Microbiol.**, v. 43, p. 103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. & DE-BASHAN, L.E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Can. J. Microbiol.**, v. 50, p. 521-577, 2004.

BASTIÁN, F.; COHEN, A.; PICCOLI, P.; LUNA, V.; BARALDI, R.; BOTTINI, R. Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A1 and A3 by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. **Plant Growth Regulation**, v.24, p.7-11, 1998.

BERGEROT, C. Cozinha vegetariana. São Paulo: Cultrix, 2004.

BODDEY, R. M. Biological nitrogen fixation associated with sugarcane and rice: contributions and prospects for improvement. **Plant and Soil**, v. 174, p. 195-209, 1995.

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999.

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R.P. Identification of gibberellins A1, A3 and iso-A3 in cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiology**, v.90, p.45-47, 1989.

BURRIS, R. H. Nitrogenases. **J. Biol. Chem**, v. 266, p. 9339-9342, 1991.

CACCIARI, I.; LIPPI, D.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. **Plant and Soil**, v.115, p.151-153, 1989.

CALDARELLI, C. E.; BACCHI, M. R. P. Fatores de influência no preço do milho. **Nova economia**, v. 22, p. 141-164, 2012.

CANUTO, E. L.; SALLES, J. F.; OLIVEIRA, A. L. M.; PERIN, L.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. CERIGIOLI, M.M. Diversidade de bactérias endofíticas de raízes de milho (*Zea Mays* L.) e potencial para promoção de crescimento [dissertação de doutorado]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2006.

CHELIUS, M.K. & TRIPLETT, E.W. The diversity of archaea and bacteria in association with the roots of *Zea mays* L. **Microbiol. Ecol.**, v. 41, p. 252-263, 2001

COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação. 2.ed. Piracicaba: Potafos, p.9, 1995.

CONCEIÇÃO, P. M.; VIEIRA, H. D.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; CONCEIÇÃO, P. S. Efeito dos ácidos húmicos na inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em sementes de milho. **Ciência Rural**, v. 39, n.6, p. 1880-1883, 2009.

CROZIER, A.; ARRUDA, P.; JASMIM, J.M.; MONTEIRO, A.M.; SANDBERG, G. Analysis of indole-3-acetic acid and related indóis in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.2833-2837, 1988.

CRUZ, L. M.; SOUZA, E. M.; WEBER, O. B.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. 16 S Ribossomal DNA characterization of nitrogen-fixing bacteria isolated from banana (*Musa spp.*) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill.). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 5, p. 2375-2379, 2001.

DOBEREINER, J. History and new perspectives of diazotrophs in association with non-leguminous plants. **Symbiosis, Rehovot**, v.13, p.1-13, 1992.

DÖBEREINER, J.; ALVAHYDO, R. Sobre a influência da cana-de-açúcar na ocorrência de *Beijerinckia* no solo. II- Influência das diversas partes do vegetal. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 4, p. 401-412, 1959.

DÖBEREINER, J.; DAY, L. M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen fixing sites. In: NEWTON, W. E.; NYMAN, C. J. (Eds.). **Nitrogen Fixation**, v. 2, p. 518-538, 1976.

DÖBEREINER, J.; DE-POLLI, H. Diazotrophic rhizocoenoses. Stewart D. P.; Gallon, J. R. **Nitrogen fixation**. London: Academic Press, p. 301-334, 1980.

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants. **Madison: Science Tech Publishers**, p. 154, 1987.

FERREIRA, A. S.; PIRES, R. R.; RABELO, P. G.; OLIVEIRA, R. C.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H. Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. **Applied Soil Ecology**, v. 72, p. 103-108, 2013.

FORNASIERI FILHO, D. A cultura do milho. Jaboticabal: FUNEP, 1992.

FREITAS, J. L. M.; PEREIRA, P. A. A.; DOBEREINER, J. Effect of organic matter and *Azospirillum* spp. strains in the metabolism of nitrogen in *Sorghum vulgare*. In: VOSE, P. B.; RUSCHEL, A. P. **Associative N<sub>2</sub> fixation**. Boca Raton: CRC Press, v. 1, p. 155-163, 1981.

GODOY, L. J. G. Manejo do nitrogênio em cobertura na cultura do milho (*Zea mays* L.) em solo arenoso baseado no índice relativo de clorofila [dissertação de mestrado]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2002.

GOMES, M. L. de. Bactérias diazotróficas endofíticas em cultivares de milho em áreas de cerrado e mata no estado de Roraima [dissertação de mestrado]. Boa Vista: Universidade Federal de Roraima; 2009.

GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas em arroz de sequeiro. **Agronomia**, v. 37, p. 25-30, 2003.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 895-914, 1997.

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

HUREK, T.; REINHOLD-HUREK, B.; VAN MONTAGU, M.; KELLENBERGER, E.; Root colonization and systematic spreading of *Azoarcus* sp. strain BH72 in grasses. **Journal of Bacteriology**, v. 176, p. 1913-1923, 1994.

JAMES, E. K.; OLIVARES, F. L. Infection and colonization of sugar cane and other graminaceous plants by endophytic diazotrophs. **Critical Reviewin Plant Science**, v. 17, p. 77-119, 1998.

KIM, J.; REES, D. C. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. **Biochemistry**, Oxford, v. 17, n. 6, p. 859-863, 1985.

KIRCHHOF, G.; ECKERT, B.; STOFFELS, M.; BALDANI, J. I.; REIS, V. M.; HARTMANN, A. *Herbaspirillum frisingense* sp. nov., a new nitrogen-fixing a bacterial species that occurs in C4-fibre plants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 157-168, 2001.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; LOVATO, T.; FLÔRES, M. L. Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1459-1465, 2007.

LAZAROVITS, G. & NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. **Hortic. Sci.**, v. 32, p. 188-192, 1997.

LÓPEZ-BUCIO, J. L. et al. Phosphate availability alters architecture and cause changes in hormone sensitivity in the Arabidopsis root system. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 129, n. 1, p. 244-256, 2002.

MAGALHÃES, F. M. M.; PATRIQUIN, D.; DÖBEREINER, J. Infection of field grown maize with *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 39, p. 587-596, 1979.

MEHANZ, S.; WESELOWSKI, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum zea* sp. nov., a diazotrophic bacterium isolated from rhizosphere soil *Zea mays*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 2805-2809, 2007.

MINISTÉRIO DA FAZENDA. Panorama do mercado de fertilizantes. 2011.

MUÑOZ-GARCIA, A.; CABALLERO-MELLADO, J.; VALDÉS, M. Promoción del crecimiento del maíz por cepas productoras de siderófos de *Azospirillum* y *Pseudomonas* fluorescentes. In: CONGRESO NACIONAL DE LA FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO Y I ENCUENTRO IBEROAMERICANO DE INVESTIGACION SOBRE

FIJACION DE NITROGENO, 3., 1991. Cuernavaca. Anais... Cuernvaca, México, p.61. 1991.

NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Ecologia das bactérias diazotróficas nos solos tropicais. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA –CNPMA, p. 15-60, 1998.

NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Fixação biológica do nitrogênio (FBN): A importância da inoculação em soja. EMBRAPA, 2012.

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

OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; DOBEREINER, J. Occurrence of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. in roots, stems and leaves predominantly of Gramineae. **Biology and Fertility of Soils, Berlim**, v. 21, p. 197-200, 1996.

PEDRINHO, E. A. N.; JUNIOR, R. F. G.; CAMPANHARO, J. C.; ALVES, L. M. C.; LEMOS, E. G. M. Identificação e Avaliação de Rizobactérias Isoladas de Raízes de Milho. **Bragantia**, v.69, p.905-911, 2010.

RADWAN, T. EL-S. EL-D.; MOHAMED, Z.K.; REIS, V.M. Production of indole-3-acetic acid by different strains of *Azospirillum* and *Herbaspirillum* spp. **Symbiosis**, v.32, p.39-54, 2002.

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

REINHOLD-HUREK, T.; GILLIS, M.; HOSTE, B.; VANCANNEY, M.; KERSTERS, K.; DELEY, J. *Azoarcus* gen. nov.; nitrogen-fixing proteobacteria associated with roots of kallar grass (*Leptochla fusca* (L) Kunth) and description of two species: *Azoarcus indigen*

ssp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov. **International Journal of Systematic bacteriology**, v.43, p. 574-584, 1993.

REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D. & DOBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. **Crit. Rev. Plant Sci.**,v. 19, p. 227-247, 2000.

Respostas de plantas micropropagadas de cana-de-açúcar à inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas. **Agronomia**, v. 37, n. 2, p. 67-72, 2003.

RIGGS, P.J.; CHELIUS, M.K.; INIGUEZ, A.L.; KAEPLER, S.M. & TRIPLETT, E.W. Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. **Aus. J. Plant Physiol.**, v. 28, p. 829-836, 2001.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v. 17, p. 319-339, 1999.

RONCATO-MACCARRI, L. D. B.; RAMOS, H. J. O.; PEDROSA, F. O.; ALQUINI, Y.; CHUBATSU, L. S.; YATES, M. G.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; SOUZA, E. M. Endophytic *Herbaspirillum seropedicae* expresses *nif* genes in gramineous plants. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 45, p. 39-47, 2003.

SALA, V.M.R.; FREITAS, S.S.; DONZELI, V.P.; FREITAS, J.G.; GALLO, P.B. & SILVEIRA, A.P.D.S. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 29, p. 345-352, 2005.

SCHLOTTER, M. & HARTMANN, A. Endophytic and surface colonization of wheat roots (*Triticum aestivum*) by different *Azospirillum brasilense* strains studied with strain-specific monoclonal antibodies. **Symbiosis**, v. 25, p.159-179, 1998.

Sistemas de produção. Desenvolvido pela EMBRAPA milho e sorgo. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/index.htm>>. Acesso em: 16 setembro 2013.

SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. Adubação com nitrogênio. In: SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. (Ed). **Cerrado: correção de solo e adubação**. 2.ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 129-144, 2004.

USDA. Safra mundial de milho 2013/14, 4º levantamento. Disponível em: < [http://www.fiesp.com.br/wp-content/uploads/2013/06/Safra-Mundial-de-Milho\\_Ago13.pdf](http://www.fiesp.com.br/wp-content/uploads/2013/06/Safra-Mundial-de-Milho_Ago13.pdf)>. Acesso: 16 setembro 2013.

VALVERDE, A.; VELÁZQUEZ, E.; GUTIÉRREZ, C.; CERVANTES, E.; VENTOSA, A.; IGUAL, J. M.; *Herbaspirillum lusitanum* sp. nov., a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of Phaseolus vulgaris. **International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 1979-1983, 2003.

YAMADA, Y.; HOSHINO, K.; ISHIKAWA, T. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16s ribosomal RNA: The elevation of the subgenus Gluonoacetobacter to generic level. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.61, p. 1244-1251, 1997.

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

ZAPATA, F.; AMANN, H. <sup>32</sup>P isotopic techniques for evaluating the agronomic effectiveness of rock phosphate materials. **Fertilizer Research**, v. 41, p. 189-195, 1995.

ZILLI, J. E.; MARSON, L. C.; REIS, V. M., ALVES, G. C.; BALDANI, L. D.; CORDEIRO, A. C. Contribuição da bactéria diazotrófica *Herbaspirillum seropedicae* para o rendimento de grãos de arroz e milho em Roraima, **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Embrapa Roraima; n. 6, p. 20, 2007.

## Anexos

### Variável analisada: Nitrogênio Parte Aérea

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

<b>Tabela de Análise de Variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>TRAT</b>	22	471.205571	21.418435	2.150	0.0086
<b>BLOCO</b>	1	186.811800	186.811800	18.757	0.0001
<b>ERRO</b>	68	677.269212	9.959841		
<b>Total corrigido</b>	91	1335.286583			
<b>CV (%)</b>	28.70				
<b>Média geral</b>	10.9967174	<b>Número de observações</b>			92

### Variável analisada: Potássio Parte Aérea

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

<b>Tabela de Análise de Variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>TRAT</b>	22	1755.707916	79.804905	2.967	0.0003
<b>BLOCO</b>	1	1360.430227	1360.430227	50.579	0.0000
<b>ERRO</b>	68	1829.006658	26.897157		
<b>Total corrigido</b>	91	4945.144801			
<b>CV (%)</b>	11.14				
<b>Média geral</b>	46.5715326	<b>Número de observações</b>			92

### Variável analisada: Potássio Parte Aérea

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

<b>Tabela de Análise de Variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>TRAT</b>	22	18.249062	0.829503	3.709	0.0000
<b>BLOCO</b>	1	6.747903	6.747903	30.176	0.0000
<b>ERRO</b>	68	15.206199	0.223621		
<b>Total corrigido</b>	91	40.203163			
<b>CV (%)</b>	19.12				
<b>Média geral</b>	2.4726957	<b>Número de observações</b>			92

**Variável analisada: Nitrogênio/Potássio (N/K) Parte Aérea**

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

<b>Tabela de Análise de Variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>TRAT</b>	22	0.501901	0.022814	5.859	0.0000
<b>BLOCO</b>	1	0.002162	0.002162	0.555	0.4587
<b>ERRO</b>	68	0.264769	0.003894		
<b>Total corrigido</b>	91	0.768832			
<b>CV (%)</b>	<b>26.00</b>				
<b>Média geral</b>	<b>0.2399565</b>	<b>Número de observações</b>			<b>92</b>

**Variável analisada: Nitrogênio/Fósforo (N/P) Parte Aérea**

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

<b>Tabela de Análise de Variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>TRAT</b>	22	565.801018	25.718228	6.618	0.0000
<b>BLOCO</b>	1	110.343152	110.343152	28.394	0.0000
<b>ERRO</b>	68	264.259591	3.886170		
<b>Total corrigido</b>	91	940.403762			
<b>CV (%)</b>	<b>38.91</b>				
<b>Média geral</b>	<b>5.0658152</b>	<b>Número de observações</b>			<b>92</b>

**Variável analisada: Fósforo/Potássio (P/K) Parte Aérea**

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

<b>Tabela de Análise de Variância</b>					
<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>TRAT</b>	22	0.003993	0.000181	1.482	0.1110
<b>BLOCO</b>	1	0.009957	0.009957	81.292	0.0000
<b>ERRO</b>	68	0.008329	0.000122		
<b>Total corrigido</b>	91	0.022278			
<b>CV (%)</b>	<b>20.46</b>				
<b>Média geral</b>	<b>0.0540837</b>	<b>Número de observações</b>			<b>92</b>