

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

Fernanda de Almeida Godoy

Estratégias tecnológicas com bactérias promotoras de crescimento de plantas na cultura
do milho.

UBERLÂNDIA- MG
DEZEMBRO, 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

Fernanda de Almeida Godoy

Estratégias tecnológicas com bactérias promotoras de crescimento de plantas 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: Adão de Siqueira Ferreira

UBERLÂNDIA- MG

DEZEMBRO, 2017

Fernanda de Almeida Godoy

Estratégias tecnológicas com bactérias promotoras de crescimento de plantas 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: Adão de Siqueira Ferreira

Beno Wendling
Membro da Banca

Jorge da Silva Júnior
Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

Ao professor e orientador Adão de Siqueira Ferreira, pela oportunidade de realização desde projeto, paciência e ensinamentos.

A todos os funcionários do Instituto de Ciências Agrárias que de alguma forma colaboraram com a conclusão deste trabalho.

A Universidade Federal de Uberlândia, pelos conhecimentos a mim atribuídos e toda trajetória universitária que me proporcionou.

A minha estimada família, principalmente minha mãe e meu irmão, por sempre me incentivarem e depositarem em mim tanto carinho.

Ao meu pai, por ser meu guia e fonte constante de inspiração.

Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

O uso de micro-organismos, principalmente, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) é uma alternativa viável para uma produção agrícola mais sustentável e equilibrada sem diminuir os níveis de produção e tecnológicos já alcançados. O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas de milho, submetidas a duas formas diferentes de inoculação nas sementes. O ensaio foi realizado em casa de vegetação com oito tratamentos e quatro repetições. Foram utilizados três isolados de BPCV, sendo estes 710, Rec 14b e BR11080, e a combinação entre eles para compor os tratamentos. Os modos de inoculação consistiram em colocar as sementes viáveis diretamente em contato com o inóculo (modo 1) e outra forma inoculando-se sementes não-viáveis que foram colocadas logo abaixo da semente de milho viável no momento da semeadura (modo 2), totalizando 64 unidades experimentais. Foram avaliados a massa seca da parte aérea e de raiz das plantas de milho, além da análise nutricional das folhas para quantificar o teor dos nutrientes nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio. Houve diferenças significativas entre os tratamentos e também entre as duas formas de inoculação, sendo que o modo 2 de inoculação permitiu maior produção de massa seca e maior absorção de fósforo, potássio, cálcio e magnésio nas plantas quando inoculadas com os tratamentos compostos pelos isolados 710 e BR11080. O tratamento composto pela combinação entre os isolados BR11080 + Rec 14b demonstrou melhores médias para absorção de potássio, cálcio e magnésio quando inoculado diretamente nas sementes. Concluiu-se que a resposta da planta a associação com micro-organismos pode ser influenciada pelo modo de inoculação utilizado e que a combinação de isolados de BPCV não resultou em aumentos significativos na resposta fisiológica e nutricional da cultura quando comparado com a inoculação de apenas um isolado na semente.

Palavras-chave: *Zea mays*, bactérias, endofíticos, *Azospirillum*.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Descrição dos tratamentos utilizados. Uberlândia, 2016.....	17
TABELA 2. Dados de massa seca de parte aérea (g) das plantas em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.....	20
TABELA 3. Dados de massa seca de raízes (g) de plantas em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.....	20
TABELA 4. Resultado da análise de nitrogênio (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.....	21
TABELA 5. Resultado da análise de fósforo (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.....	21
TABELA 6. Resultado da análise de potássio (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.....	22
TABELA 7. Resultado da análise de cálcio (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.....	22
TABELA 8. Resultado da análise de magnésio (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.....	23

Sumário

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1. Aspectos gerais da cultura do milho	10
2.3. Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal	12
2.3.1. Bactérias Endofíticas	14
2.3.2. Gênero Azospirillum	15
2.4. Métodos de inoculação de bactérias	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Obtenção dos isolados	17
3.2. Delineamento	17
3.3. Inoculação	18
3.4. Semeadura.....	18
3.5. Condução do experimento, avaliação e análise estatística.....	18
4. RESULTADOS.....	19
5. DISCUSSAO.....	23
6. CONCLUSÃO	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

1. INTRODUÇÃO

A população mundial vem aumentando cada vez mais e a preocupação com a oferta de alimentos também é crescente. Devido à inexistência de um potencial para a expansão de áreas de terras agricultáveis, a busca pelo aumento da produtividade deve ser incessante. Essa busca deve visar não somente o aspecto quantitativo, mas também a qualidade do produto final, a viabilidade do custo dos investimentos e que simultaneamente, conservem os recursos naturais e forneçam produtos mais saudáveis. Para isso, é preciso mudar algumas atitudes e investir em ações que ajudem na produção sem comprometer os níveis tecnológicos já alcançados.

As alternativas para a otimização da produção são diversas, relacionando vários fatores desde o potencial genético da planta ao manejo adequado do solo. O uso de micro-organismos benéficos tem sido uma alternativa tecnológica importante, principalmente nos trópicos a exemplo do cerrado brasileiro. Vários estudos têm sido realizados com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) devido aos efeitos benéficos destes micro-organismos sobre a resposta fisiológica e nutricional em plantas cultivadas (BASHAN E HOLGUIN, 1997; COMPANT et al., 2010; FERREIRA et al, 2013,).

As BPCP são micro-organismos encontrados livres no solo ou em associação simbiótica ou assimbiótica com as raízes das plantas. As BPCP podem ser endofíticas, as quais são encontradas no interior das plantas sem causar qualquer dano aparente ao seu hospedeiro (AZEVEDO, 2000), de rizosfera e de rizoplane. As endofíticas podem desenvolver uma associação simbiótica mais especializada como a formação de nódulos nas leguminosas e, outras, podem estar distribuídas em todo o tecido celular das raízes das plantas. Este tipo de associação assimbiótica pode levar uma colonização de baixo custo energético para o hospedeiro e com ganhos importantes na indução de resistência a patógenos e produção de hormônios para o crescimento radicular.

Quando em associação, as bactérias promovem um aumento substancial da área da raiz, gerando benefícios para a cultura que terá maior eficiência na absorção de água do solo, além de maior disponibilidade de macro e micronutrientes às plantas (SILVEIRA, 2008).

O *Azospirillum* é um gênero considerado diazotrófico, ou seja, realiza processos de fixação biológica do nitrogênio atmosférico (BALDANI et al., 1997). As principais espécies atualmente estudadas desse gênero são: *A. brasilense*, *A. amazonense* e *A. lipoferum* (CARDOSO et al., 2010), sendo que os isolados de *A. lipoferum* apresentam maior afinidade por plantas com via fotossintética C4, como o milho (BRASIL et al. 2005).

O milho é um cereal muito consumido pela população e de grande importância para o agronegócio brasileiro. O Brasil se destaca como um dos principais países produtores deste cereal, considerado o terceiro maior produtor mundial (FAO, 2017). Esta cultura além de apresentar grande importância socioeconômica é de extensa diversidade de uso, podendo ser empregado em grande número de subprodutos.

Sua produtividade se relaciona de forma direta com o potencial genético da semente, as condições edafoclimáticas e a disponibilidade de nutrientes. O nitrogênio (N) caracteriza-se como o nutriente exigido em maior quantidade, podendo onerar muito o custo de produção e se tornar um fator limitante para grandes produções (FORNASIERI FILHO, 2007; FARINELLI et al., 2010).

A inoculação de bactérias nas plantas é capaz de gerar economia na adubação (MÜLLER, 2013), relaciona-se com solubilização de fosfatos, produção de fitormônios (BASHAN E HOLGUIN, 1997) e aumento da absorção de nutrientes minerais e água. Diante deste cenário, o uso de micro-organismos benéficos, principalmente os capazes de fixar o nitrogênio atmosférico, se mostra como uma chave para o aumento da produtividade. Sendo assim, a proposta deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas de milho submetidas a duas formas de diferentes de inoculação na semente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da cultura do milho

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*. É uma cultura explorada e domesticada desde os primórdios da agricultura e está presente na cultura de importantes civilizações. Todas as evidências científicas levam a crer que seja uma planta de origem mexicana, visto que a sua domesticação começou 7.500 a 12.000 anos atrás na área central da Mesoamérica e é onde se encontram seus parentes selvagens mais próximos (Teosinto e *Tripsacum*).

É uma planta C4 extremamente eficiente na conversão de dióxido de carbono (CO₂). Caracteriza-se como alógoma, monóica e apresenta uma inflorescência masculina (pendão) e uma feminina (espiga) em diferentes locais da planta (GALVÃO et al., 2015). O ciclo da cultura pode variar bastante, devido principalmente a grande evolução e adaptação que esta cultura foi submetida ao longo dos anos. Porém, o ciclo da maioria dos cultivares varia entre 105 e 180 dias, período compreendido entre a semeadura e a colheita.

Como descrito por Alves (2007), nas condições em que o milho é cultivado no Brasil, o plantio pode ocorrer praticamente durante o ano todo. Dessa forma, denominou-se a cultura de acordo com a época de plantio: milho safra ou primeira safra, plantado de agosto a dezembro; e milho safrinha ou segunda safra, plantado de janeiro a maio. No entanto, o período mais expressivo para o plantio ocorre na safra, mas o milho safrinha vem ganhando espaço como alternativa viável de atividade econômica e de produto para consumo no período de outono-inverno.

De acordo com Ritchie et al. (1993) todas as plantas normais de milho seguem um mesmo padrão geral de desenvolvimento, mas os intervalos de tempo específicos entre os estádios e os números totais de folhas desenvolvidas podem variar entre diferentes híbridos, estações do ano, datas de plantio e locais. Sendo assim, o crescimento de uma planta de milho é dividido em dois grandes estágios, o vegetativo e o reprodutivo. Durante o estágio vegetativo, ocorre o desenvolvimento da planta e a definição do potencial produtivo teórico. Durante o estágio reprodutivo, ocorre o

desenvolvimento da espiga e finalização do ciclo com a maturidade fisiológica da semente.

O milho é atualmente a segunda cultura mais importante na agricultura brasileira, atrás apenas da cultura da soja. No ano agrícola de 2016/2017, a produção de grãos alcançou 39% da produção total de grãos do país (CONAB, 2017). Entretanto, praticamente toda a produção de milho brasileira é consumida internamente, diferente da cultura da soja, que concentra sua comercialização em mercados externos (ALVES, 2007). A maior parte da produção de grãos brasileira é destinada a alimentação animal de suínos, aves e o rebanho bovino.

No cenário mundial, este cereal destaca-se como o grão mais produzido no mundo, com produção aproximada de 1 bilhão de toneladas. Sendo que EUA, China e Brasil são os principais produtores do cereal. Porém, apesar de estar entre os três maiores produtores, o Brasil não se destaca entre os países com maior produtividade. No ano agrícola 2016/2017 a área nacional destinada a lavouras de milho foi de 16.084 milhões de hectares com uma produção de 83.818 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2017). Para a safra de 2018, estima-se uma produtividade de 10,62 toneladas por hectare em uma área de aproximadamente 17 milhões de hectares (CONAB, 2017).

A baixa produção se justifica principalmente pelo fato da cultura estar inserida na cadeia produtiva de pequenos agricultores e agricultura familiar. Grande parte destes produtores utilizam um baixo nível de tecnologia, não possuem grandes extensões de terras e cultivam para subsistência comercializando o excedente. Desta forma, a geração de tecnologias pelos órgãos de fomento deve levar em consideração não apenas a otimização do processo produtivo em sistemas com elevada aplicação de tecnologia, mas também favorecer alternativa de cultivo sob baixa tecnologia, evidenciando principalmente o fato de o milho ser uma cultura que gera empregos no setor agrícola e ter grande importância pela utilização na indústria e alimentação humana e de animais (PEDRINHO, 2009; ALVES, 2007).

2.2. Agricultura e alternativas para diminuição do uso de defensivos agrícolas

A história e evolução da agricultura se caracterizam por constantes desafios, tanto de restrições para a expansão de terras e o aumento de sua produtividade como de

atendimento à demanda do consumo (SILVA et al. 2011). Segundo estimativas da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), até 2050, a população deverá se estabilizar em torno de 9,3 bilhões de habitantes. Para alimentar essa população, a produção de alimentos deverá aumentar em 70% (FAO, 2016).

O Brasil é um país com vocação natural para o agronegócio devido às suas características e diversidades. Atualmente, o país exerce um importante papel na produção de alimentos, sendo o terceiro maior exportador mundial (OMC, 2017). Em contrapartida, o Brasil também se encontra entre os maiores consumidores mundiais de defensivos agrícolas, sendo responsável por um quinto do consumo mundial destes insumos (ANVISA, 2017).

No atual cenário onde a sociedade apresenta uma preocupação crescente com a preservação e a conservação ambiental, além da maior conscientização das pessoas ao risco de produtos fitossanitários para a saúde e ambiente, o desafio de atender ao crescimento da demanda mundial por alimentos também enfrentará pressões crescentes para a redução de seu impacto ambiental (SILVA et al. 2011).

Sendo assim, várias alternativas para uma agricultura mais sustentável podem ser adotadas, como práticas conservacionistas de preparo do solo, rotações de culturas, consórcios, controle biológico de pragas e a utilização de micro-organismos (OLIVEIRA et al. 2003) que atuam como promotores do crescimento vegetal e agentes de biocontrole. Sendo que este último representa uma opção viável, efetivando processos biológicos no sistema solo/planta e contribuindo para que ocorra diminuição da dependência do uso de insumos, visando uma tendência para o desenvolvimento da agricultura equilibrada com o meio ambiente (DASTAGER et al., 2011).

2.3. Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal

Os micro-organismos e as plantas participam de um ecossistema complexo, no qual diferentes ambientes são explorados por uma extensa variedade de seres vivos, dentre eles, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCP) (CORDEIRO, 2017). Este grupo de bactérias compreende micro-organismos benéficos para as plantas e com capacidade de colonizar a superfície das raízes e folhas, a região da rizosfera e filosfera e ainda tecidos internos das plantas (HUNGRIA, 2010).

Na década de 80, estudos pioneiros comprovaram os efeitos benéficos das BPCP em relação à disponibilização de nitrogênio que algumas espécies de plantas (como milho, trigo, arroz, cana-de-açúcar) podem obter quando associadas a esses micro-organismos (BODDEY E DÖBEREINER, 1988). Desde então, intensificaram-se as pesquisas com estes tipos de organismos principalmente com a finalidade de incrementar produtividade às culturas de interesse agrícola.

As BPCP desempenham papel relevante no funcionamento das plantas e tanto mecanismos diretos como indiretos de promoção do crescimento podem ocorrer nos sistemas naturais. Em relação aos mecanismos de ação direta relacionados às BPCP, está a capacidade das mesmas em fixar o nitrogênio atmosférico (ZAHARAN, 2001), produzir ou alterar as concentrações de fitohormônios, tais como auxinas, citocininas, giberelinas (TIEN et al., 1979; VACHERON et al., 2013) e etileno (GLICK et al., 1995), solubilizar fosfatos (RODRIGUEZ et al., 2006), produzir sideróforos e acelerar os processos de mineralização (OLIVEIRA et al. 2003). Indiretamente, os mecanismos de ação incluem a capacidade de indução de resistência sistêmica na planta hospedeira (VAN LOON, 2007), produção de antibióticos e antagonismo a fitopatógenos, entre outros fatores.

A especificidade da interação entre as BPCP e as plantas varia de acordo com as características genéticas das espécies envolvidas. Além disso, a eficiência destes micro-organismos pode ser influenciada por outros fatores, como a quantidade e qualidade dos micro-organismos inoculados, o método usado para inoculação, a estirpe bacteriana, a fase de desenvolvimento da cultura no ato da inoculação, as condições edafoclimáticas, interações com a microbiota nativa, a fitossanidade das plantas, adição inadequada de nutrientes no solo através da fertilização e muitos outros (MELNICK et al., 2008; MATSUMURA et al., 2015; CORDEIRO, 2017).

As bactérias promotoras de crescimento podem ser classificadas como epifíticas ou endofíticas de acordo com o local em que se estabelece a colonização na planta. Sendo que o primeiro abrange micro-organismos que colonizam a superfície externa do vegetal (rizoplano ou filoplano), em quanto que o segundo caracteriza os que habitam o interior dos tecidos (HALLMANN et al., 1997). Muito embora, determinadas populações bacterianas podem oscilar entre endofíticas e epifíticas (CORDEIRO, 2017)

ou ainda se apresentarem como habitantes apenas da rizosfera, que corresponde à região do solo diretamente influenciada pela presença das raízes (JESUS, 2013).

Resultados demonstrando a eficiência desses microrganismos já foram relatados para alguns gêneros como: *Azotobacter*, *Clostridium*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia* (BODDEY E DÖBEREINER, 1995; BASHAN E BASHAN, 2010). Sendo assim, existe uma possibilidade de redução na aplicação de fertilizantes sintéticos devido à capacidade desses micro-organismos em fixar nitrogênio atmosférico e solubilizar nutrientes do solo. Demonstrando atributos promissores para uma agricultura mais sustentável sem acarretar em perdas na produtividade (HAYAT et al., 2010; GOOD E BEATTY, 2011; MIRANSARE, 2011).

2.3.1. Bactérias Endofíticas

Como citado por Mariano (2004), as bactérias são micro-organismos capazes de colonizar o interior e o exterior das plantas podendo ser benéficas, neutras ou prejudiciais ao seu desenvolvimento. Os micro-organismos endofíticos caracterizam-se por residirem no interior do tecido de plantas sem causar nenhum dano aparente ao seu hospedeiro (AZEVEDO, 2000).

Os endofíticos podem ser encontrados nas folhas, ramos, raízes e até mesmo em sementes (OLIVEIRA E ANDRADE, 2010). O fato de estas bactérias serem capazes de colonizar os tecidos internos das plantas confere vantagens sobre outros micro-organismos por poderem sobreviver em um ambiente mais uniforme onde são menos afetadas pela temperatura, potencial osmótico e radiação ultravioleta (LODEWYCKX et al., 2002).

As bactérias endofíticas são consideradas bactérias promotoras do crescimento vegetal atuando de forma direta e indireta na planta, como descrito anteriormente. Entretanto, a colonização por este grupo específico de bactérias pode apresentar também outros mecanismos, como a supressão de micro-organismos deletérios do ambiente endofítico através de mecanismos de competição ou antibiose (MARIANO et al, 2004). Além do mais, como as bactérias endofíticas colonizam nichos ecológicos muitas vezes idênticos aos nichos ocupados por espécies fitopatogênicas, principalmente de tecidos

vasculares, esta função de biocontrole pode ser uma importante forma de proteção de plantas (OLIVEIRA, 2003).

2.3.2. Gênero *Azospirillum*

O *Azospirillum* é um gênero de bactérias promotoras de crescimento de vida-livre, cuja primeira espécie foi isolada por Beijerinck no ano de 1925. Posteriormente J. Döbereiner e J. M. Day (1976) relataram que estas bactérias se encontram amplamente distribuídas na rizosfera de várias gramíneas e desde então intensivos estudos vem sendo realizados conferindo a estes micro-organismos a capacidade de estabelecer associações com plantas não-leguminosas.

Segundo Hungria (2010), os benefícios da promoção de crescimento provavelmente são resultados da combinação de diversos fatores. Entre os efeitos diretos da interação entre bactérias do gênero *Azospirillum* e plantas, pode-se observar a biossíntese de hormônios promotores do crescimento, como auxinas, giberelinas, citocinina e de reguladores de crescimento, a solubilização de fósforo e fixação biológica de nitrogênio (FBN) (COELHO et al. 2017). Os mecanismos indiretos de atuação envolvem a indução de resistência sistêmica a doenças, biossíntese de hormônios relacionados ao estresse e a biossíntese de compostos antimicrobianos (CASÁN et al., 2008).

Todavia, apesar do grande número de pesquisas existentes com *Azospirillum* spp. seu uso ainda é limitado devido principalmente a grande variação dos resultados obtidos. Sendo que a resposta da planta a colonização por este micro-organismo pode variar muito de acordo com fatores como o tipo da cultivar utilizada, condições edafoclimáticas e a metodologia de condução dos ensaios (BARTCHECHEN et al. 2010; SANGOI et al., 2015).

2.4. Métodos de inoculação de bactérias

O termo “inoculação” se refere à incorporação de uma substância em um organismo. Aos produtos formulados contendo bactérias ou outros micro-organismos que atuam favoravelmente no desenvolvimento das plantas atribui-se o nome de ‘inoculante’.

Existem diversos tipos de formulações de inoculantes disponíveis no mercado, sendo que os mais comuns são produtos líquidos ou sólidos (a base de turfa), recomendados na sua grande maioria para inoculação das sementes, antes do tratamento químico.

Embora a inoculação das sementes seja a forma mais recomendada e utilizada atualmente, outros métodos também podem ser empregados, como principalmente a pulverização do produto biológico sobre as plantas e a infestação do solo (ROLLEMBERG, 2013).

Lopes et al. (2013) compararam a altura de plantas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* diretamente na semente e no sulco de plantio, apesar de relatar médias superiores destes tratamentos diante da testemunha, não houve influência significativa entre os modos de inoculação utilizados. Conforme Hungria et al. (2007), o maior desafio na inoculação com *Azospirillum* nas sementes é a sua compatibilidade com fungicidas e outros produtos usados no tratamento da mesma. Várias pesquisas ainda precisam ser conduzidas para definir de fato qual a melhor forma de se realizar a inoculação dos micro-organismos.

Sendo assim, é necessário conhecer a população microbiana que compõem um inoculante e a partir disso definir qual a dose e forma de aplicação adequada para obter o melhor desempenho do produto e possibilitar ao micro-organismo demonstrar todo seu potencial genético.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no período de janeiro a agosto de 2016 sendo que os ensaios foram realizados em casa de vegetação pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, localizada no campus Umuarama na cidade de Uberlândia, estado de Minas Gerais.

O solo utilizado para condução do experimento foi coletado na Fazenda do Glória, localizada na Rodovia BR 050, Km 78 pertencente à Universidade Federal de Uberlândia. O solo foi coletado a 10 cm de profundidade e levado para o laboratório, onde foi peneirado e exposto sobre o ar para secar e posteriormente acondicionado em

vasos com capacidade para três kilogramas que corresponderam às unidades experimentais.

3.1. Obtenção dos isolados

Foram selecionados dois isolados da Bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFU, sendo estes 710 e Rec 14 b; e um isolado fornecido pela Embrapa, a estirpe de *Azospirillum lipoferum* (BR 110080).

Os três isolados de bactérias foram cultivados em meio líquido contendo 2 g de glicose; 5 g de NaCl; 0,2 g de MgSO₄; 2 g de triptona; 1 g de extrato de levedura; 1 g de peptona e 0,5 g de K₂HPO₄ por 1000 mL de água destilada à 32°C por 48 h. Após o crescimento bacteriano, foi quantificado em espectrofotômetro em 600 nm, sendo padronizada uma densidade ótica (0,400) por meio de diluição com o mesmo meio de cultura.

3.2. Delineamento

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 8 tratamentos (Tabela 1), sendo estes compostos pelos três isolados e a combinação entre cada um deles, e quatro repetições. Foram testadas duas formas de inoculação dos micro-organismos nas plantas de milho, totalizando 64 parcelas experimentais.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos utilizados. Uberlândia, 2016.

Tratamento	Descrição
T1	Testemunha (sem inoculação de bactérias)
T2	710
T3	Rec 14 b
T4	BR11080
T5	BR11080 + 710
T6	BR11080 + Rec 14b
T7	710 + Rec 14b
T8	BR11080 + 710 + Rec 14b

3.3. Inoculação

A inoculação das bactérias nas sementes foi realizada de duas formas: direta (modo 1) e indiretamente (modo 2). A forma direta constitui-se em colocar as sementes viáveis de plantas de milho em contato direto com o inóculo, no próprio meio líquido utilizado para o crescimento dos microrganismos. Em quanto que a forma indireta de inoculação foi realizada com sementes previamente autoclavadas (sem embrião viável), que serviram como forma de condução das bactérias até o solo. Sendo que a inoculação foi realizada nessas sementes não-viáveis, que no momento da semeadura foram colocadas logo abaixo da semente de milho viável, que até o referido momento não havia tido contato com os isolados das bactérias.

A preparação do inóculo foi realizada separando-se em 16 copos descartáveis, sendo 2 copos para cada tratamento, 25 sementes de milho lavadas em água destilada para retirada do fungicida. Posteriormente adicionou-se 5 ml de sacarose a 10% (10 g de sacarose para 100 ml de água destilada) e 2 ml de cada isolado em seu respectivo copo representando o tratamento. Em tratamentos com combinações entre dois microrganismos, foi adicionado 1 ml de cada isolado. No tratamento constituído pela combinação entre três os micro-organismos, adicionou-se 0,66 ml de cada isolado. Mantendo-se o volume inicial padrão de inóculo de 2 ml para todas as parcelas experimentais.

3.4. Semeadura

Em cada vaso de três kilogramas foram semeadas cinco sementes viáveis. E após sete dias da semeadura foi realizado um desbaste deixando apenas três plantas por vaso. Também nesta data foi realizada uma adubação fornecendo 80 mg: kg^{-1} de Fósforo, 150 mg: kg^{-1} de Potássio e 50 mg: kg^{-1} de Nitrogênio por vaso.

3.5. Condução do experimento, avaliação e análise estatística

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com rega diária e a avaliação foi realizada 30 dias após a adubação e o desbaste.

Para a avaliação as três plantas de cada vaso foram coletadas e acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados, separando parte aérea e raiz. O material

foi colocado em estufa a 60°C por 48 horas. Após esse tempo avaliou-se o peso da massa seca de raiz e da parte aérea, onde esta última foi moída afim reduzir a granulometria para posterior análise química dos nutrientes.

A quantificação dos nutrientes da parte aérea das plantas foi realizada no laboratório pertencente à Universidade Federal de Uberlândia, seguindo Método de Kjeldahl (1883) para determinação de nitrogênio orgânico total, e Digestão Nitro-perclórica para determinação dos elementos fósforo, potássio, cálcio e magnésio.

Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2000).

4. RESULTADOS

Na avaliação dos resultados do ensaio com inoculação de bactérias a fim de analisar a promoção de crescimento das plantas de milho foi possível observar variações nas médias dos nutrientes e também diferenças estatísticas entre as duas formas de inoculação dos micro-organismos.

Efeito da inoculação na promoção de crescimento.

Houve um incremento de massa na parte aérea das plantas de milho quando submetidas a tratamentos com os isolados de bactérias (Tabela 2). Entretanto, foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos somente quando inoculados de forma indireta nas sementes. Na forma de inoculação direta todos os tratamentos tiveram uma resposta similar quanto a massa seca da cultura do milho.

Os resultados mostram que o tratamento 4 (BR11080) se destacou, apresentando a maior média de massa seca da parte aérea quando analisado o modo 2. Os demais tratamentos apresentaram resultados semelhantes estatisticamente, hora tendendo para maiores ou para menores médias. A menor massa seca da parte aérea foi observada no tratamento T6, composto pela combinação entre BR11080 + Rec 14b. Em geral, a

combinação dos isolados diminui a resposta da cultura a inoculação quando usado o modo 2.

Quando comparado as duas formas de inoculação, houve diferença estatística para os tratamentos com 710 (T2), Rec 14 b (T3), BR11080 (T4) e BR11080 + 710 + Rec 14b (T8). Apresentando maiores médias quando inoculados pelo modo indireto.

Tabela 2. Dados de massa seca de parte aérea (g) das plantas em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.

Tratamentos ^a		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Modo 1		1,39 aA	1,18 aB	1,30 aB	1,31 aB	1,42 aA	1,53 aA	1,39 aA	1,33 aB
Modo 2		1,50 abcA	1,76 abA	1,55 abcA	1,84 AA	1,56 abcA	1,32 cA	1,40 bcA	1,57 abcA

CV: 11,07%

^aLetras minúsculas distintas, na linha, diferem os tratamentos pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem o modo de inoculação pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

A massa seca das raízes não resultou em diferenças estatísticas entre os tratamentos, tampouco entre as formas de inoculação (Tabela 3), demonstrando que as raízes se desenvolveram em condições homogêneas para esta variável.

Tabela 3. Dados de massa seca de raízes (g) de plantas em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.

Tratamentos		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Modo 1		2,34	2,59	2,03	2,07	1,97	2,11	2,25	1,84
Modo 2		2,28	2,23	2,20	2,33	1,94	2,06	2,17	1,88

CV: 20,82%

Efeito da inoculação na absorção de nutrientes

Foi quantificado o teor de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio nas folhas das plantas de milho. A absorção de nitrogênio não apresentou diferença

estatística entre as parcelas experimentais (Tabela 4). Todos os tratamentos tiveram a mesma eficiência na absorção deste nutriente.

Tabela 4. Resultado da análise de nitrogênio (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.

	Tratamentos ^a							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Modo 1	34A	28B	32A	32B	30B	35A	30A	29B
Modo 2	34A	38A	37A	38A	37A	31A	33A	36A

CV: 20,82%

^aLetras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem o modo de inoculação pelo teste de tukey a 5% de probabilidade

Entretanto, quando analisado a quantidade de nitrogênio nas diferentes formas de inoculação constatou-se que o modo 2 foi mais eficiente para os tratamentos 710 (T2), BR11080 (T4), BR11080 + 710 (T5) e BR11080 + 710 + Rec 14b (T8). Os dados sugerem que esta forma de inoculação pode melhorar a eficiência de absorção de N na cultura do milho.

A quantidade de fósforo apresentou uma variação entre os tratamentos, porém diferenças estatísticas só foram observadas no modo de inoculação indireto das sementes (Tabela 5). Observa-se que o tratamento T4, composto pelo *Azospirillum*

Tabela 5. Resultado da análise de fósforo (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.

	Tratamentos ^a							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Modo 1	3,3	3,1	3,1	3,2	3,5	3,7	3,5	3,7
	aB	aB	aB	aB	aA	aA	AA	AA
Modo 2	4,1	4,4	3,9	4,5	3,9	3,3	3,7	4,2
	abA	abA	abA	aA	abA	bA	abA	abA

CV: 13,32%

^aLetras minúsculas distintas, na linha, diferem os tratamentos pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem o modo de inoculação pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

lipoferum, apresentou a maior média no fósforo assimilado.

Entre os dois modos de inoculação testados, houve maior eficiência de absorção de fósforo pelos tratamentos compostos pelos isolados puros (T2, T3 e T4) quando inoculados de forma indireta. Os demais tratamentos, compostos pelas combinações entre os isolados, não apresentaram diferenças estatísticas entre as duas formas de inoculação.

Para a eficiência na absorção dos nutrientes potássio (Tabela 6) e cálcio (Tabela 7), novamente não foi observada diferença entre os tratamentos quando inoculados de forma direta nas sementes.

Tabela 6. Resultado da análise de potássio (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.

		Tratamentos ^a							
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Modo 1		21,5	18,3	19,4	19,6	21,5	24,0	20,5	19,5
		aA	aB	AA	aB	aA	aA	aA	AA
Modo 2		22,4	25,2	23,2	24,7	23,1	15,4	21,0	21,6
		abA	aA	abA	aA	abA	bB	abA	abA

CV: 16,29%

^aLetras minúsculas distintas, na linha, diferem os tratamentos pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem o modo de inoculação pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 7. Resultado da análise de cálcio (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.

		Tratamentos ^a							
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Modo 1		14,47	13,12	17,82	16,97	15,72	17,20	16,52	15,72
		aB	aB	aA	aB	aA	aA	aA	aA
Modo 2		17,80	19,87	18,10	20,37	17,20	14,0	14,07	16,0
		abA	aA	abA	aA	abA	bB	bA	abA

CV: 12,80%

^aLetras minúsculas distintas, na linha, diferem os tratamentos pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem o modo de inoculação pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Na forma indireta os tratamentos T2 e T4 obtiveram maiores médias, tanto para a quantidade destes nutrientes nas folhas quanto para o modo de inoculação utilizado. O tratamento composto por BR11080 + Rec 14b (T6) se comportou de maneira inédita, demonstrando maior eficiência na absorção do potássio e do cálcio quando inoculado de forma direta nas sementes. Quando inoculado de forma indireta, este mesmo tratamento apresentou a menor média entre os demais tratamentos experimentais.

A última variável analisada, quantidade de magnésio nas folhas, apresentou diferenças entre os tratamentos nas duas formas de inoculação (Tabela 8).

Tabela 8. Resultado da análise de magnésio (g/planta) nas folhas de milho em função de diferentes tratamentos e modos de inoculação nas sementes. Uberlândia, 2016.

		Tratamentos ^a							
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Modo 1		16	14	16	18	18	20	18	16
		abA	BB	abB	aB	aA	aA	abA	abA
Modo 2		18	22	20	23	17	14	15	17
		bcdA	abA	abcA	aA	cdeA	eB	deB	cdeA

CV: 11,18 %

^aLetras minúsculas distintas, na linha, diferem os tratamentos pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem o modo de inoculação pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

No modo 1, os tratamentos T4, T5 e T6 obtiveram maiores médias, sendo esses todos compostos pelo *A. lipoferum*, seja na forma isolada ou em combinações. No modo 2 de inoculação, a maior quantidade de magnésio foi constatada nas folhas submetidas aos tratamentos T2 e T4. Sendo que estes, juntamente com o tratamento T3, destacaram-se para a forma de inoculação indireta dos isolados. Entretanto os tratamentos T6 e T7 apresentaram melhor desempenho quando inoculados diretamente nas sementes viáveis de milho.

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como objetivo testar a eficiência de bactérias endofíticas e do *Azospirillum lipoferum* na promoção de crescimento de plantas e na absorção de nutrientes. Apesar de ter sido possível observar um substancial aumento de massa seca da parte aérea das plantas quando inoculadas com *A.lipoferum*, as médias entre este tratamento e a testemunha não se diferiram estatisticamente. No trabalho realizado por Sangoi et al. em 2015, o tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. também não apresentou melhora no desempenho agrônômico do milho.

Os resultados descritos na literatura sobre os efeitos do *Azospirillum* sp. no desempenho agrônômico do milho são bastante variados. Em geral, o efeito da inoculação sobre a produção situa-se em torno de 10 a 30% e, em alguns casos, valores mais elevados de 50 a 250 % têm sido mencionados (BODDEY e DOBEREINER, 1988).

Como descrito por Matsumura et. Al (2015), vários fatores podem influenciar o sucesso da colonização bacteriana, entre eles o genótipo da planta, a estirpe bacteriana, condições ambientais, práticas agrícolas e a quantidade e qualidade das células de BPC utilizadas.

O aumento da fixação de nitrogênio também não foi verificado neste trabalho, visto que os tratamentos não se diferiram na quantidade deste nutriente nas folhas. Roesch et al. (2006) verificaram que a colonização de plantas de milho por bactérias diazotróficas foi inibida por altas doses de N durante os primeiros estádios de crescimento. Isso ocorreu porque o N mineral alterou o estado fisiológico da planta e, por consequência, a sua associação às bactérias diazotróficas. Sendo assim, uma possível explicação para este baixo desempenho dos isolados pode ser atribuído a adubação realizada uma semana após a semeadura e que pode ter interferido na ação bacteriana.

A resposta positiva a absorção dos demais nutrientes (fósforo, potássio, cálcio e magnésio) era esperada, visto que algumas bactérias endofíticas possuem capacidade de aumentar a absorção de nutrientes minerais e água e melhorar a disponibilização para as plantas (HALLMANN et al., 1997; LAZAROVITS e NOWAK, 1997). Contudo, foi possível observar que o modo de inoculação interferiu na resposta da cultura.

Para a maioria dos nutrientes e tratamentos o modo de inoculação indireto possibilitou maior desempenho na absorção. Entretanto para o tratamento T6 e T7 a combinação entre os isolados demonstrou melhor eficiência quando inoculados diretamente nas sementes. Isso evidencia que a forma de inoculação exerce influência sobre a resposta da cultura, podendo ter efeito positivo e alguns casos negativo na resposta fisiológica e nutricional na cultura do milho.

Poucos estudos foram realizados no sentido de avaliar qual é a melhor forma de inocular BPC nas plantas, e ainda se a forma mais utilizada atualmente realmente possibilita ao organismo demonstrar todo o seu potencial biológico. Sendo assim, estudos adicionais ainda são necessários visando estratégias que evitem ao máximo dano as bactérias e ainda possibilitem as melhores condições de desenvolvimento inicial, para que se efetive a colonização.

A combinação entre os isolados foi realizada como uma estratégia para avaliar possíveis efeitos de potencialização. Carvalho et al. (2005), em um estudo a fim de avaliar o desempenho simbiótico de diferentes isolados de estirpes de rizóbio *Bradyrhizobium Japonicum* e *Bradyrhizobium elkanii* em plantas de soja, a partir da adição de inóculos mistos, observaram que o determinante para maior eficiência em tratamentos coinoculados foi o tipo de interação (sinérgica ou antagônica) predominante no tratamento.

No presente trabalho, para a absorção de nutrientes a combinação entre os isolados não demonstrou efeito positivo significativo. Ocorrendo em alguns casos antagonismo, como por exemplo, para a absorção de fósforo. A combinação entre BR11080 + Rec 14b e 710 + Rec 14b se mostrou positiva para absorção de potássio, cálcio e magnésio quando inoculados diretamente nas sementes das plantas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados indicaram que os isolados 710 e BR11080 de BPCV podem ser usados na inoculação de sementes de milho, mas sua resposta depende da forma de inoculação. A combinação de isolados de bactérias promotoras de crescimento não resulta em aumentos significativos na resposta fisiológica e nutricional da cultura quando comparado com a inoculação de apenas um isolado na semente. O modo 2 de inoculação pode ser uma alternativa importante na cultura do milho, visto que, em geral, pode melhorar a resposta fisiológica e nutricional do milho quando comparado com o procedimento usual de inoculação de *A. lipofeum* e dos isolados de BPCP estudados nesta pesquisa.

7. REFERÊNCIAS

- 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.
- ARAÚJO, E. O. **Quantificação da Contribuição de Bactérias Diazotróficas na Absorção de Nitrogênio pela Cultura do Milho**. Mato Grosso do Sul: UFGD, 2014. 160 p. Dissertação (doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal Grande Dourados, Dourados, 2014.
- AZEVEDO, J. L. *et al.* Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**. Valparaíso, v. 3, p. 40-65, 2000.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in agronomy**, v. 108, p. 77-136, 2010.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances. **Canadian Journal of Microbiology**. Ottawa, v. 43, p. 103-121. 1997.
- BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. **Canadian Journal of Microbiology**. v. 36, p. 591-605. 1990.
- BALDANI, J.I. *et al.* Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology And Biochemistry**, Elmsford, v.29, p. 911-922, 1997.
- BARTCHECHEN, A. *et al.* Efeito da inoculação de *Azospirillum* brasilense na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L). **Campo Digital**, v.5, p.56-59, 2010.
- BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. **Fertilizer Research**, Oxford, v.42, p.241-250, 1995.
- BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereal: recent results and perspectives for future research. **Plant and Soil**, v. 108, n. 1, p. 53-65, 1988.
- BRASIL M.S; BALDANI, J. I. Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associadas a gramíneas forrageiras do Pantanal Sul Matogrossense. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, vol.29, n.2, pp.179-190. 2005.
- CARVALHO, F.G.; SELBACH, P.A.; BIZARRO, M.J. Eficiência e competitividade de variantes espontâneos isolados de estirpes de *Bradyrhizobium* spp recomendadas para a

cultura da soja (*Glycine Max*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p 883-891, 2005.

CASSAN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp.: Aspectos fisiológicos y tecnológicos de La promoción del crecimiento vegetal. In: **Azospirillum sp: Cell physiology, plant response, agronomic and environmental research in Argentina**. Buenos Aires, p. 59 – 76. 2008.

COELHO, A. E.; TOCHETTO, C.; TUREK, T. L.; MICHELON, L. H.; FIOREZE, S. L. Inoculação de Sementes com *Azospirillum* brasilense em Plantas de Milho Submetidas à Restrição Hídrica. **Sci. Agrar. Parana.**, Marechal Cândido Rondon, v. 16, n. 2, abr./jun., p. 186-192, 2017

COMPANT, S.; CLEMÉNT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biol. Biochem.** n42, p 669–678, 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Levantamentos de Safra**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253>>. Acesso em: 14/11/17.

CORDEIRO, J. E. B. **Desempenho Agrônomo do Milho em Resposta à Inoculação de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas**. Minas Gerais: UFV, 2017. 95 p. Dissertação (mestrado) – Curso de Pós-Graduação com Área de Concentração em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, Universidade Federal Viçosa, Florestal, 2017.

DALL’AGNOL, A. **Grandes produtores e consumidores de alimentos**. Disponível em: <<http://blogs.canalrural.com.br/embrapasoja/2017/01/10/grandes-produtores-e-consumidores-de-alimentos/>>. Acesso em: 14/11/2017.

DASTAGER, S. G.; DEEPA C. K.; PANDEY, A. Potential Plant Growth-promoting Activity of *Serratia nematodiphila* NII-0928 on Black Pepper (*Piper nigrum* L.). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.27, n.2, p. 259–265. 2011.

DOBEREINER, J.; DAY, J. M. Associative symbiosis in tropical grasses: Characterization of microorganisms and dinitrogen fixing sites. *Proc. Ist. Int. Symp. Nitrogen Fixation*, v., p.518-538, 1976.

ESTADÃO CONTEÚDO. **Brasil perdeu espaço no mercado agrícola mundial, afirma OMC**. Disponível em: <<https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/brasil-perdeu-espaco-no-mercado-agricola-mundial-afirma-omc.ghtml>>. Acesso em: 15/11/17.

EL PAÍS. **O “alarmante” uso de agrotóxicos no Brasil atinge 70% dos alimentos**. Disponível em: <https://brasil.elpais.com/brasil/2015/04/29/politica/1430321822_851653.html>. Acesso em: 14/11/17

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.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. **Representante da FAO Brasil apresenta cenário da demanda por alimentos**. Disponível em: <<http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/901168/>>. Acesso em: 15/11/17.

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

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, Heidelberg, v. 6, n. 3, p.1-13, 2016.

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

GOOD, A. G.; BEATTY, P. H. Fertilizing Nature: A Tragedy of Excess in the Commons. **PLoS Biology**, v. 9, n. 8, 2011.

GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 109-117, 1995.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, n. 43, n. 10, p. 895-914, 1997.

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 579-598, 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.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 80p, 2007.

JESUS, J. A. **Potencial Biotecnológico de Actinobactérias e Bactérias Diazotróficas Endofíticas Para o Crescimento de Plantas**. Rio de Janeiro: UENF, 2013. 107 p. Dissertação (mestrado) – Curso Centro de Ciências Tecnológicas Agropecuárias, Área de Concentração em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2013.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; BEM, E. A. D.; PORTUGAL, J. R.; VILELA, R. G. Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de

nitrogênio em cobertura e foliar em milho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 527-538, mar./abr. 2013.

LAZAROVITS, G.; NOWAK, J. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. **Hort Science**, v. 32, n. 2, p. 188-192, 1997.

LINS, M. R. C. R. **Seleção de Actinobactérias da Rizosfera da Caatinga com Potencial para Promoção de Crescimento Vegetal**. Pernambuco: UFPE, 2014. 85 p. Dissertação (mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, Área de Concentração em Biotecnologia Industrial, Universidade Federal Pernambuco, Recife, 2014.

LODEWYCKX, C.; VANGRONSVELD, J.; PORTEOUS, F.; MOORE, E. R. B.; TAGHAVI, S.; MEZGEAY, M.; VAN DER LELIE, D.; Endophytic bacteria and their potential applications. *CRC Critical Reviews in Plant Science*, v.21, n.6, p. 583-606, 2002.

LOPES, M. M.; PES, L. Z.; AMARAL, L. P.; CASTRO, B. **Altura de plantas de milho em diferentes métodos de inoculação de sementes com *Azospirillum brasilens***. Anais do XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Bento Gonçalves, 2016.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para a agricultura sustentável, **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 1, p.89-111, 2004.

MATSUMURA, E. E.; SECCO, V. A.; MOREIRA, R. S.; SANTOS, O. J. P.; HUNGRIA, M.; OLIVEIRA, A. L. M. Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Annals of Microbiology**, v. 65, n. 4, p. 2187-2200, 2015.

MELNICK, R. L.; ZIDACK, N.K.; BAILEY, B. A.; MAXIMOVA, S.N.; GUILTINAN, M.; BACKMAN, P. A. Bacterial endophytes: *Bacillus* spp. From annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. **Biological Control**, v. 46, p. 46-56, 2008.

MULLER, B.; SUN, L.; SCHUNURER, A. First insight into the syntrophic acetate-oxidizing bacteria - a genetic study. **Microbiology open**, v 2, p 35–53. 2013.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. “**Processos e Mecanismos Envolvidos Na Influência de Microrganismos Sobre o Crescimento Vegetal**”. Embrapa Agrobiologia, 161. Seropédica. 2003.

OLIVEIRA, G.; ANDRADE, L. F. **Bactérias Endofíticas**. Universidade Estadual de Montes Claros, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas. Janaúba, 24 p. 2010.

PEDRINHO, E. A. N. **Isolamento e Caracterização de Bactérias Promotoras de Crescimento em Milho**. São Paulo: UNESP, 2009. 87 p. Tese (doutorado) – Curso de

Pós-Graduação em Ciências Agrárias e Veterinárias, Área de Concentração em Microbiologia, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a corn plant develops**. Ames Iowa State University of Science and Technology, 20 p. 1993.

RODRIGUEZ, H.; FRAGA, R.; GONZALEZ, T.; BASHAN, Y. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. **Plant and Soil**, v. 287, n. 1-2, p. 15-21, 2006.

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

ROLLEMBERG, C. **Microrganismos Promotores de Crescimento na Aclimatização de Plantas: Técnicas de Inoculação**. XIX Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais. Recife, 2013.

SANGOI, L.; SILVA, L. M. M.; MOTA, M. R.; PANISON, F.; SHMITT, A.; SOUZA, N. M.; GIORDANI, W.; SCHENATTO, D. E. Desempenho agrônômico do milho em razão do tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. E da aplicação de doses de nitrogênio mineral. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 4, p. 2015.

SILVA, M. F. O.; COSTA, L. M. A **indústria de defensivos agrícolas**. BNDES Setorial 35, p. 233 – 276, 2011.

SILVEIRA, E. L. **Inoculações de Bactérias Promotoras de Crescimento no Cultivo de Arroz em Solução Nutritiva**. São Paulo: UNESP, 2008. 99 p. Tese (Doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias e Veterinárias, Área de Concentração em Microbiologia Agropecuária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

TEIXEIRA, J. R.; FERREIRA, A. S.; SANTOS, M. A. Isolamento de bactérias diazotróficas do solo e de raízes de *Gossypium hirsutum*, *Saccharum officinarum* e *Zea mays* cultivados em solos do cerrado. **Horizonte Científico**, n 2, p. 1- 20. 2008

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. H. Plant growth substances produced by *Azospirillum* brasilense and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 37, n. 5, p. 1016-1024, 1979.

TSCHOEKE, B. A. P. **Monitoramento da interação entre rizobactéria RZ2Ms16 (*Burkholderia ambifaria*) promotora de crescimento e bioinoculantes comerciais aplicados nas culturas de soja e milho**. São Paulo: ESALQ, 2016. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Área de Concentração Microbiologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2016.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE-USDA. Disponível em: <<https://www.ers.usda.gov/data-products/agricultural-exchange-rate-data-set/>> . Acesso em: 20/11/17.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M. L.; TOURAINE, B.; PRIGENTE-COMBARET, C. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**. v. 4, p. 166-184, 2013.

VAN LOON, L. C. Plant responses to plant growth-promoting bacteria. **European Journal of Plant Pathology**, v. 119, p. 243-254, 2007.

ZAHRAN, H. H. Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. **Journal of Biotechnology**, v. 91, n. 2, p. 143-153, 2001.