

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
WILLIAM GILBERTO BALBINOT

**INOCULAÇÃO DE *Bacillus* sp. NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays* L.)
COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO**

Curitibanos
2018

WILLIAM GILBERTO BALBINOT

**INOCULAÇÃO DE *Bacillus* sp. NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays* L.)
COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, do *campus* Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profª Drª Glória Regina Botelho

Curitibanos
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Balbinot, William Gilberto
INOCULAÇÃO DE Bacillus sp. NA CULTURA DO MILHO (Zea
mays L.) COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO / William Gilberto
Balbinot ; orientador, Glória Regina Botelho, 2018.
48 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2018.

Inclui referências.

1. Agronomia. I. Botelho, Glória Regina . II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Agronomia. III. Título.

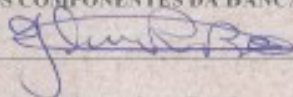
**INOCULAÇÃO DE *Bacillus* sp. NA CULTURA DO MILHO (*Zea mays*) COMO
PROMOTOR DE CRESCIMENTO.**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Colegiado do Curso de
Agronomia, do Campus Curitibanos da
Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.

Orientador(a): Dr^a Glória Regina Botelho

Data da defesa: 07 de novembro de 2018

MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:

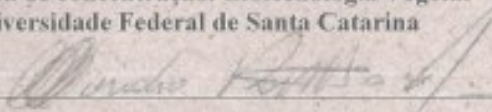


Presidente e Orientador: Professora Dra. Glória Regina Botelho

Titulação: Doutora

Área de concentração: Biotecnologia Vegetal

Universidade Federal de Santa Catarina

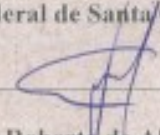


Membro Titular: Professor Dr. Cláudio Roberto Fonséca Sousa Soares

Titulação: Doutor

Área de concentração em: Ciência do Solo

Universidade Federal de Santa Catarina



Membro Titular: Roberto de Almeida

Titulação: Agrônomo

Área de concentração em: Fitotecnia

Local: Universidade Federal de Santa Catarina

Campus de Curitibanos

Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por permitir que tudo isso acontecesse na minha vida, me dando força e saúde em todos os momentos difíceis.

À Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade de realizar o curso, a todo corpo de docentes, direção e administração por tornar a instituição um ambiente agradável.

Agradeço a todos os professores por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e da educação no processo de formação profissional, em especial minha orientadora Dr^a Glória Regina Botelho pelo empenho e paciência dedicado à elaboração do trabalho.

Aos meus pais, Jair e Gilceia, pelo amor, incentivo e confiança que depositaram em mim.

Os amigos e companheiros que fizeram parte de minha vida acadêmica.

A Kalindi Rossetto por todo o tempo que dedicou a mim nessa difícil tarefa de me formar na faculdade, bem como todos os conselhos, puxões de orelha, por partilhar dos momentos de tristeza e estar presente nos momentos de alegria, meu muito obrigado.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, muito obrigado!

Inoculação de *Bacillus* sp. na cultura do milho (*zea mays* L.) como promotor de crescimento

William Gilberto Balbinot

Resumo

A cultura do milho possui grande importância econômica social em todo o país. O uso de fertilizantes químicos, em especial os nitrogenados e fosfatados, são os maiores incrementos aos custos de produção e podem ser danosos ao meio ambiente. Uma alternativa para diminuição do uso de insumos é a utilização das Rizobactérias Promotoras de Crescimento (RBPC), dentre as quais se destacam *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas*, que são, atualmente, os gêneros mais estudados. Neste contexto, objetivou-se testar a campo cinco isolados de *Bacillus* sp. da Coleção de Rizobactérias da UFSC *campus* Curitibanos. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Agropecuária da UFSC *campus* Curitibanos, sendo conduzido em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC) contendo oito tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos utilizados foram inoculação dos isolados de *Bacillus* sp. EB02, EB12, EB14, EB16 e EB23, com 50% da adubação nitrogenada, 100% da adubação nitrogenada e uma testemunha sem adubação e inoculação. As avaliações realizadas foram o diâmetro do colmo e espiga (mm), altura da planta (cm), número de grãos por fileira e espiga, teor de nitrogênio foliar (g kg^{-1}) e produtividade de grãos (kg ha^{-1}). Dos sete parâmetros avaliados, somente o teor de nitrogênio foliar e número de fileiras por espiga não diferiram estatisticamente. Para altura de planta e diâmetro de colmo, o isolado EB16 se assemelhou à dose de 100% de nitrogênio. Juntamente, com o isolado EB02 obtiveram as melhores respostas para diâmetro de espiga e produtividade, sendo tão eficiente quanto à dose de 50% de nitrogênio. Em geral, os isolados EB02 e EB16 apresentaram a mesma performance dos tratamentos com a adubação nitrogenada, indicando sua capacidade de promoção de crescimento.

Palavras Chaves: Rizobactérias. Adubação. Gramíneas.

ABSTRACT

Maize cultivation has significant economic and social importance throughout the country. The use of chemical fertilizers, in particular nitrogen and phosphate is the highest production costs and can be harmful to the environment. An alternative to decrease the inputs is the use of PGPR, including *Azospirillum*, *Bacillus* and *Pseudomonas*, which are currently the most studied genera. In this context, the objective was to perform a field test using five *Bacillus* sp. isolates from rizobacteria collection of UFSC *campus* Curitibanos. The experiment was carried out at the Experimental Farm of the UFSC *campus* Curitibanos and the design was in randomized block with eight treatments and four replicates. The treatments were the *Bacillus* sp. isolates EB02, EB12, EB14, EB16 and EB23, one with 50% of nitrogen fertilization, a 100% of nitrogen fertilization and a control without inoculation or fertilization. Parameters evaluated were Plant height (cm), numbers of grains per row and spike, foliar nitrogen content (g kg^{-1}) and grain yield (kg ha^{-1}). Only the leaf nitrogen content and number of rows per spike did not differ statistically. For plant height and stem diameter, the EB16 isolate resembled the 100% nitrogen dose. Along with EB02 isolate, they obtained the best responses for ear diameter and yield, reaching the same performance of the 50% nitrogen dose. In general, EB02 and EB16 isolates showed the same performance of nitrogen fertilization treatments, indicating their growth promoting capacity.

Keywords: Rizobacteria. Fertilizing. Grassy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sementes com e sem inoculação, antes da semeadura.	25
Figura 2 - Área do experimento pré-semeadura.	25
Figura 3 - Croqui da área com a disposição dos tratamentos.	26
Figura 4 - Tratos culturais realizados no experimento.	27
Figura 5 - Espigas do milho sendo debulhadas em trilhadora acoplada a trator.	29
Figura 6 - Altura de planta 90 DAS.....	30
Figura 7 - Diâmetro do colmo (mm) 90 DAS.	32
Figura 8 - Teor de N foliar.	33
Figura 9 – Número de grãos por fileira e número de fileiras por espiga.....	35
Figura 10 - Diâmetro de espiga	36
Figura 11 - Produtividade.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades químicas do solo antes da instalação do experimento.	23
Tabela 2 - Descrição dos tratamentos experimentais	26

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS.....	15
1.1.1	Objetivo Geral	15
1.1.2	Objetivos Específicos.....	15
1.1.3	JUSTIFICATIVA.....	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO	16
2.1.1	Produção de milho.....	17
2.2	A IMPORTANCIA DO NITROGÊNIO E DO FÓFORO NA CULTURA DO MILHO	17
2.2.1	O nitrogênio	17
2.3	RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS (RPCP).....	19
2.3.1	Gênero <i>Bacillus</i>.....	21
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1	LOCALIZAÇÃO DA ÁREA.....	23
3.2	SELEÇÃO, CULTIVO E INOCULAÇÃO DAS BACTÉRIAS.....	24
3.2.1	Seleção dos isolados de <i>Bacillus</i> sp.....	24
3.2.2	Cultivo do milho	24
3.2.3	Inoculação	24
3.3	SEMEADURA	25
3.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	26
3.5	TRATOS CULTURAIS	27
3.6	AVALIAÇÕES	27
3.6.1	Altura de planta.....	27
3.6.2	Diâmetro de colmo.....	28
3.6.3	Número de grãos e fileiras por espiga, diâmetro de espigas.....	28

3.6.4	Nitrogênio Foliar	28
3.6.5	Produtividade.....	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1	ALTURA DE PLANTA.....	30
4.2	DIÂMETRO DE COLMO	32
4.3	NITROGÊNIO FOLIAR.....	33
4.4	NÚMERO DE GRÃOS POR FILEIRA E FILEIRAS POR ESPIGA.....	35
4.5	DIÂMETRO DE ESPIGA.....	36
4.6	PRODUTIVIDADE	37
5	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) está entre os principais cereais cultivados em todo o mundo. É a base de inúmeros produtos utilizados para a alimentação humana. Serve para a alimentação animal, tanto na forma de grão, ou processada dando origem rações formuladas, como matéria-prima para a indústria, em função da quantidade/qualidade das reservas acumuladas nos grãos e utilizada como nova fonte para produção de biocombustíveis (ALVES et al., 2015). O cereal se destaca no agronegócio brasileiro como uma das principais culturas estando presente em todas as unidades da federação (CONAB, 2018). Segundo Ratz et al., (2017), com o crescimento constante da população mundial, haverá por consequência um aumento na demanda por alimentos e isso exigirá a adição de novas tecnologias aplicáveis a agricultura, capazes de aumentar a produtividade.

O milho responde muito bem a adubação, sendo uma das culturas mais exigentes em adubos nitrogenados. Quando em níveis adequados, ocorrem incrementos significativos na produção final, influenciada por várias características (OHLAND et al., 2005). Apesar de ser considerado o nutriente indispensável para se alcançar alta produtividade, o nitrogênio (N), é também o elemento que mais contribui para o aumento dos custos na cultura do milho (MORTATE et al., 2018).

Com o avanço da agricultura, acredita-se que nos próximos anos, haverá um incremento substancial no uso de fertilizantes no Brasil. O mercado brasileiro de fertilizantes, porém, é frágil e com grande dependência das importações (COELHO, 2006). Segundo Rambo et al., (2007), ainda não existem critérios estabelecidos na literatura para definição da época de aplicação da dose de N a ser aplicada na faixa de para cada estágio fenológico. Assim, se estas faixas não forem manejadas corretamente, a necessidade de aplicação de N em cobertura pode ser sub ou superestimada, causando redução de produtividade de grãos ou contaminação ambiental por excesso de N aplicado (SUNDERMAN et al., 1997).

Uma das alternativas é o uso de Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal (MPCV), como as bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCPs), os fungos micorrízicos, entre outros. Inúmeros gêneros de bactérias vêm sendo descritos por apresentarem algum tipo de interação com as culturas. Os gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas* são os mais estudados atualmente.

Esses microrganismos podem desempenhar um papel relevante e estratégico para garantir alta produtividade a baixo custo, além dos benefícios prestados ao meio ambiente

(EMBRAPA, 2011). Dentre os benefícios, pode-se destacar a capacidade em solubilizar fosfatos naturais (SOUCHIE; ABBOD; CAPRONI, 2007), a produção de hormônios vegetais como o ácido-indol-acético (AIA) (CATTELAN,1999) a produção de quitinase, produção de sideróforos, a fixação biológica de nitrogênio e capacidade de sobreviver em ambientes adversos com pouco nutriente (COMPANT et al., 2013; FEDRIZZI, 2006).

O *Bacillus* sp. é uma das principais rizobactérias de importância para o aumento do crescimento vegetal. Essas rizobactérias influenciam positivamente na germinação, desenvolvimento e rendimento da cultura devido à produção de hormônios vegetais, pela solubilização de fósforo, fixação biológica de nitrogênio e inibem a ação de substâncias tóxicas produzidas por fungos através da antibiose (KUPPER et al., 2003).

Uma pequena quantidade dos microrganismos existentes é conhecida, bem como suas interações com o meio, com as culturas e com outros microrganismos. Com isso encontrar rizobactérias capazes de interagir de forma benéfica com as culturas é fundamental para o desenvolvimento de novas biotecnologias.

Sugere-se, então que os RPCV possam influenciar as culturas durante seu desenvolvimento, diminuindo a utilização de adubação, reduzindo conseqüentemente o custo de produção, sem alterar a produtividade esperada. Objetivou-se no presente trabalho testar a campo, o potencial de cinco isolados de *Bacillus* sp., da Coleção de Rizobactérias da UFSC *campus* Curitibanos, na cultura do milho.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar no campo a capacidade dos isolados de *Bacillus* sp. e adubação nitrogenada em promover crescimento em milho (*Zea mays* L.).

1.1.2 Objetivos Específicos

Avaliar a capacidade dos isolados de *Bacillus* sp. como fixadores de nitrogênio.

Avaliar a relação dos isolados com o incremento de produtividade da cultura.

1.1.3 JUSTIFICATIVA

A agricultura, atualmente, busca o aumento da produtividade por área associada a uma redução dos custos de produção. O custo elevado de produção no Brasil é representado em grande maioria pelo mau uso do maquinário e insumos como ocorre com os fertilizantes nitrogenados.

A seleção adequada de fungos e bactérias, que possam ter potencial para promoção do crescimento vegetal de plantas, pode representar uma estratégia agronômica que viabilize diminuir a utilização de fertilizantes, reduzindo os custos de produção evidenciadas por essa prática e dessa forma tentar colaborar para uma agricultura mais sustentável, que depende de uso mínimo de insumos (JÚNIOR, 2014).

Além de atuar como fixador de nitrogênio, o gênero *Bacillus* e demais fixadores são de importância para a promoção do crescimento vegetal. A promoção do crescimento vegetal mediada por *Bacillus* é realizada por vários mecanismos, como a produção de fitohormônios estimuladores do crescimento (LIMA et al., 2011). Além disso, estes microrganismos atuam como solubilizadores de fosfatos inorgânicos e desempenham importante papel no suprimento de fósforo para as plantas (SILVA FILHO; VIDOR, 2000).

Este fato tem despertado a atenção para a utilização desses microrganismos como meios alternativos para a produção, pois, podem resultar em acréscimo do crescimento vegetativo e produção de grão além da redução dos custos de produção mediado pela redução no uso de fertilizantes minerais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO

O milho é classificado como uma planta monocotiledônea, da família das Poaceas, cujo ciclo fenológico varia de 90 a 205 dias, dependendo do genótipo e do ambiente (NORMAN et al., 1995; TOLLENAAR; DWYER, 1999). É uma planta C₄, muito eficiente na conversão de CO₂, com altas taxas de fotossíntese líquida, mesmo em níveis de luz elevados. Originado das Américas, mas especificamente no país do México, América Central ou Sudoeste dos Estados Unidos, é uma das culturas mais antigas do mundo, com indicações de que é cultivado há pelo menos 5.000 anos e incorporado a diferentes sistemas de produção (MARCHI, 2008).

Segundo Duarte et al. (2011) o milho deve ser analisado sob a ótica das cadeias produtivas ou dos sistemas agroindustriais, pois é matéria prima para inúmeros usos que vão desde a alimentação humana e animal à produção de cosméticos, combustíveis, entre outros por apresentar inúmeras características de interesse.

A composição do grão de milho é, em média, de 72% de amido, 9,5% de proteínas, 9% de fibra e 4% de óleo. O grão de milho é formado pelo endosperma, constituído principalmente do amido; pelo embrião, no qual se concentram quase as totalidades dos lipídios, além de quantidades importantes de proteínas e açúcares; pelo pericarpo, composto principalmente de fibras, e pela ponta (CRUZ et al., 2008).

Além de apresentar qualidades nutricionais relevantes, destaca-se também na geração de empregos em diversas áreas, como em empresas de beneficiamento, sobretudo na época da safra. Geralmente, o cultivo do milho em grandes lavouras é mecanizado, não demandando tanta mão de obra, já em pequenas propriedades o cultivo é semi-mecanizado na maioria das produções, necessitando de grande mão de obra, logo evitando situações extremas de êxodo rural.

Existem diversos fatores que limitam a produtividade do milho, como doenças, pragas, disponibilidade hídrica, quantidade e capacidade de assimilar os nutrientes. Em relação à fertilidade, dentre todas as culturas o milho é o mais exigente em fertilizantes, em especial os nitrogenados (FERNANDES et al., 2008). Nas condições em que o milho é explorado no Brasil, segundo Magalhães et al. (2002) a cultura do milho, para expressar seu potencial produtivo, necessita de em média 600 mm de precipitação e temperaturas entre 25 e 30 °C, variando de acordo com o material genético.

2.1.1 Produção de milho

O milho é cultivado em todas as partes do mundo, sendo a produção mundial na safra 2017/2018 contabilizou um equivalente a 1.03 bilhões de toneladas. Os maiores produtores mundiais são Estados Unidos, China e o Brasil, que produzem aproximadamente 371, 215 e 82 milhões de toneladas respectivamente (CONAB, 2018).

Dentro do panorama nacional a safra 2017/2018 sofreu uma redução em produtividade, caindo de 97 milhões de toneladas produzidas na safra anterior, para 82 milhões de toneladas. Essa redução deu-se por dois motivos principais, primeiro pela redução da área de cultivo e segundo pela redução da produtividade média por hectare que caiu de 5.562kg/ha para 4.891kg/ha, redução de 12.06% na produtividade média por área. (CONAB, 2018).

A região sul do país é responsável pelo plantio de 17,3% da área total destinada a milho, e contribui com uma produção de 19,2% da produção nacional. Dentre os estados do sul, Santa Catarina é responsável pelo plantio de 319 mil hectares, produzindo o equivalente a 3% da produção nacional. O que mais chama a atenção para o estado é que a produtividade média por hectare fica na casa 8mil kg enquanto a nacional beira os 5mil kg (CONAB, 2018).

2.2 A IMPORTANCIA DO NITROGÊNIO NA CULTURA DO MILHO

2.2.1 O nitrogênio

O N é um nutriente de alta demanda para a cultura, exerce importante papel nos processos bioquímicos da planta, uma vez que é constituinte de proteínas, enzimas, nucleotídeos e aminoácidos que formam a estrutura de ácidos nucleicos e das proteínas, respectivamente (FARIA, 2014).

Com inúmeras funções relevantes nas suas atividades fisiológicas, a disponibilidade de N afeta diretamente a área foliar, a taxa de fotossíntese, o crescimento do sistema radicular, o tamanho de espigas, o número e a massa de grãos e a sanidade de grãos (PIONNER, 1995) por esses fatos o nitrogênio se faz tão importante para o milho.

Para se produzir uma tonelada de grãos de milho, é extraído do solo aproximadamente 18 a 20 kg de nitrogênio (FANCELLI, 2000) e usualmente requer o uso de adubação nitrogenada em cobertura para complementar a quantidade suprida pelo solo

(CRUZ et al., 2008). Para manter os altos rendimentos da cultura do milho, torna-se imprescindível o fornecimento de nitrogênio (N) visto que, a deficiência de N pode acarretar em perdas de produtividade de 14 a 80 % (FANCELLI; DOURADO NETO, 2008).

Nos Estados Unidos a produção média da cultura do milho é superior a 10 toneladas por hectare, enquanto no Brasil a produtividade média mal chega a 5 toneladas por hectare (EMBRAPA, 2011). Existe uma série de fatores que causam essa baixa produtividade como semeadura mal realizada ou fora do zoneamento, baixa fertilidade do solo, condições ambientais e uma das que mais afeta essa produção o manejo incorreto do N, nutriente absorvido em maior quantidade pelo milho, e que mais influencia na resposta em produtividade de grãos (AMADO et al., 2002).

Segundo Hoefl (2003), a dose, a época e o método de aplicação de fertilizantes nitrogenados têm efeito marcante na produtividade das culturas. O manejo da adubação nitrogenada deve suprir a demanda da planta, nos períodos críticos, e minimizar o impacto no ambiente, pela redução de perdas (FERNANDES; LIBARDI, 2007), pois os solos em geral não suprem totalmente a demanda de N para a exigente cultura do milho (PÖTTKER; WIETHÖLTER, 2004).

O N é considerado um dos principais fatores limitantes ao rendimento de grãos de milho e o que mais onera custo de produção da cultura (ARAÚJO et al., 2004). Sabe-se, por exemplo, que a adubação nitrogenada representa cerca de 40% do custo total de produção da cultura do milho (BARROS NETO, 2008).

Diante deste cenário, os usos de alternativas que visam diminuir o custo da produção é a fixação biológica do nitrogênio (FBN), processo pelo qual o nitrogênio atmosférico é transformado em NH_3 biologicamente útil para os organismos, aparece como uma alternativa de acentuada importância no suprimento de nitrogênio para as culturas e para o manejo sustentável dos solos (HUNGRIA et al., 2000). Este processo é realizado por um grupo de bactérias capazes de fixar o nitrogênio do ar ocorrendo graças a complexos enzimáticos denominados nitrogenase (BALDANI et al., 2002).

Para espécies vegetais como o milho, a fixação biológica do nitrogênio proporciona um acréscimo de 20 a 30% na aquisição deste elemento (MOREIRA et al., 2010). Estima-se que a fixação biológica do nitrogênio contribua com 65% da entrada anual de nitrogênio na Terra, enquanto que a produção industrial contribui com 24% e a fixação não biológica com cerca de apenas 10% (HUNGRIA et al., 2001).

2.3 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS (RPCP)

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) são bactérias que habitam o solo e são isoladas com frequência da rizosfera de diversas plantas cultivadas e vêm sendo estudados, como: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Azotobacter*, *Staphylococcus* e *Azospirillum* (GLICK, 2012; MAHMOOD et al., 2016).

Essas bactérias podem ser classificadas como rizosféricas, endofíticas ou mesmo de vida livre e independentemente do local exato de habitat apresentam os mesmos mecanismos para promover o crescimento das plantas (DOTY, 2013).

Considerando seus efeitos sobre o crescimento vegetal, as bactérias podem ser classificadas em benéficas, deletérias ou neutras (GRAY; SMITH, 2005; DOBBELAERE et al., 2003). Aquelas que estabelecem uma associação benéfica com as plantas têm sido isoladas, multiplicadas, formuladas e utilizadas como prática agrônômica em alguns países, favorecendo o desenvolvimento e a produtividade das plantas (LUZ, 1996).

Os benefícios para as plantas hospedeiras provenientes das interações com as RPCP têm sido mostrados, incluem a saúde e crescimento, supressão de doenças causadas por microrganismos e aceleração da disponibilidade de nutrientes e assimilação (MANTELIN; TOURAINE, 2004).

Diversos são os mecanismos que as rizobactérias exercem e beneficiam as plantas, tais como: a produção de sideróforos, indução de resistência, a antibiose e a produção de fitohormônios (RAMAMOORTHY, 2001; TARNAWSKI, 2006) ou de forma direta pela solubilização de fosfatos e outros minerais (ASHGAR et al., 2002). Além disso, as rizobactérias são capazes de colonizar rapidamente o sistema radicular das plantas, além de prevenir a invasão de patógenos deletérios (KLOEPPER, 2004).

A produção de sideróforos pode formar complexos estáveis com metais pesados como, por exemplo, Al, Cd, Cu, Ga, In, Pb e Zn, bem como com radionuclídeos, incluindo U e Np (KISS e FARKAS, 1998; NEUBAUER et al., 2000). Assim, os sideróforos ajudam a aliviar as tensões impostas sobre as plantas por níveis elevados de metais pesados no solo.

A indução de resistência vem sendo reportada em estudos com RPCP, pela indução de enzimas relacionadas à patogênese (PR-proteínas) e/ou regulando a atividade de enzimas situadas em pontos-chaves do metabolismo secundário da planta (PASCHOLATI; LEITE, 1994), como foi observado por Govindappa et al. (2014), que observaram incremento na atividade das enzimas lipoxigenase, polifenilalanina amônia-liase, peroxidase,

polifenoloxidase e β -1,3 glucanase no tecido foliar de plantas de cártamo microbiolizadas com rizobactérias e inoculadas com *Cercospora carthami*.

A produção de antibióticos é uma forma eficiente para o controle biológico de fitopatógenos, pois as espécies algumas RPCP são consideradas biocontroladoras. Dentro destas espécies destacam-se os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* (MARIANO et al., 2005) pois, atuam em baixas concentrações e diretamente no metabolismo do patógeno (HARMAN et al., 2004) e com isso o dano causado pelo patógeno sobre a planta é menor.

Outro mecanismo é a produção de fitohormônios. Relata-se que 80% dos microrganismos isolados da rizosfera possuem a capacidade de sintetizar auxinas como metabólitos secundários, sendo o ácido indolacético (AIA), o principal (PATTEN e GLICK, 1996). Este fitormônio está envolvido na divisão, extensão, diferenciação celular; estímulo à germinação das sementes; aumento da velocidade de desenvolvimento do xilema e das raízes; controle dos processos de crescimento vegetativo; início da formação das raízes laterais e adventícias; mediação das respostas à luz, gravidade e florescimento; influência na fotossíntese; formação de pigmentos; biossíntese de vários metabólitos, e a resistência a condições de stress (TSAVKELOVA et al., 2007; GLICK, 2012) e por isso é um mecanismo muito importante.

A solubilização é uma alternativa para a transformação de fosfatos inorgânicos em fosfatos solúveis. Esse fenômeno ocorre principalmente devido à ação de alguns microrganismos presentes no solo, como bactérias e fungos (NAHAS, 1991). A solubilização de fosfatos por bactérias é responsável por frações que variam de 1 a 50% do total de fosfato disponível às plantas (JONES et al., 1991).

Os benefícios gerados pelas RPCP podem ser observados nas mais diversas culturas como já mostrada em estudo com beterraba (THRANE et al., 2000), sorgo (CHIARINI et al., 1998), milho (HUNGRIA et al., 2010) e soja (HUNGRIA et al., 2005).

Após o conhecimento das suas promissoras características em condições controladas, a utilização das RPCP em condições naturais de cultivo é essencial, pois os testes em condições de campo servem para comprovar a eficiência das mesmas e viabilizar o uso dessas como inoculantes para plantas (PÉREZ-MONTAÑO et al., 2014).

2.3.1 Gênero *Bacillus*

As bactérias do gênero *Bacillus*, estão entre as mais abundantes na rizosfera e sua atividade como promotora de crescimento vegetal vem sendo muito estudada, tendo-se em vista que a prática da inoculação com RPCP pode estimular mecanismos desejáveis aos cultivos (SAHARAN, 2011).

O *Bacillus* é um dos gêneros pertencente á microbiota do solo possuindo capacidade de interagir com diferentes plantas, podendo multiplicar-se em diferentes rizosfera por estabelecimento do rizoplano, filoplano e tecidos internos (CAMPOS SILVA et al, 2008), além de que se destacam pela tolerância a baixas temperaturas e frio intenso, capazes de sobreviver em condições adversas de pH e de se manter no solo por longos períodos até ocorrer condições ambientais favoráveis para sua germinação (KLOEPPER, 1997).

Inúmeros estudos mostram a diversidade de *Bacillus* spp. encontrados nos solos, Polanczyk et al. (2004) isolando microrganismos de solos orizícolas, encontraram 772 colônias bacterianas, das quais 50,27% eram isolados de *Bacillus*. Em estudo semelhante, Fritz et al. (2010) estudaram a frequência de espécies desse gênero no solo de diferentes cultivos de arroz irrigado e obtiveram 336 bactérias, das quais 35,42% foram identificadas como *B. thuringiensis*, 16,96% como *B. cereus*, 9,52% como *B. sphaericus* e 38,10% como *Bacillus* sp.

Além da diversidade do gênero, o desenvolvimento de plantas mediado por *Bacillus* é realizada por meio de vários mecanismos, como a produção de fitohormônios, a mobilização do fósforo, estimuladores do crescimento, a produção de sideróforos e antibióticos, a inibição da síntese de etileno, a indução de resistência das plantas contra fitopatógenos e pela eliminação dos microrganismos deletérios e de seus metabólitos tóxicos presentes na zona radicular, além da fixação biológica de nitrogênio (LIMA et al., 2011).

Algumas espécies de *Bacillus* são secretoras de substâncias estruturalmente semelhantes aos antibióticos, conhecidas como bacteriocinas, capazes de inibir ou eliminar uma grande variedade de outros microrganismos (GARCIA, 2008). Entre as espécies pertencentes a esse gênero de bactérias, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. cereus* são as espécies mais eficazes no controle de doenças de plantas, através de vários mecanismos (FRANCIS et al., 2010). Por apresentar tantas características, o gênero *Bacillus* representa o maior número de produtos microbianos disponíveis para comercialização (BATISTA, 2017).

O crescimento do sistema radicular por *B. subtilis* pode ser induzido, devido a sua capacidade de regulação hormonal das plantas através da síntese de auxina, giberilina e

citocinina (TSAVKELOVA et al., (2006); PERSELLO-CARTIEAUX et al., 2003) além de terem demonstrado ação contra nematóides. Os principais mecanismos associados à ação de *B. subtilis* no controle desses patógenos envolvem a redução da eclosão de larvas juvenis e da atratividade das raízes, em razão da produção de toxinas e alteração dos exsudatos radiculares, além da indução de resistência sistêmica na planta hospedeira (SIKORA; HOFFMANN-HERGARTEN, (1992) apud FERNANDES et al., 2014).

A capacidade de bactérias do gênero *Bacillus* em promover o crescimento vegetal foram mostrados em diversos trabalhos como por Braga Junior (2015) onde verificou que isolados de *Bacillus subtilis* foram capazes de promover o crescimento de soja e feijão caupi, produzindo maiores valores de biomassa. Quando testados em plantas de alface, por Freitas, Melo e Donzeli (2003), isolados de rizobactérias dos gêneros *Bacillus*, também demonstraram poder favorecer melhor desenvolvimento vegetal.

O *B. amyloliquefaciens* está sendo associada à proteção das plantas, possuindo resultados bastante positivos na promoção de crescimento vegetal, assim como a redução de danos por fitopatógenos (GUIMARÃES et al., 2013).

Apesar das bactérias do gênero *Bacillus* ser promissoras à promoção de crescimento de plantas devem ser avaliadas em distintos ambientes, com o objetivo de obter resultados mais satisfatórios, pois podem se desempenhar de maneira diferente. Neste contexto, a coleta e isolamento de rizobactérias são de extrema importância, pois fornece subsídios para os estudos e permitem a formação de bancos ou coleções voltadas para atividades científicas e biotecnológicas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA

O trabalho foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina – *campus* de Curitibanos, em Curitibanos – SC, durante a safra 2027/2018. A área está localizada nas coordenadas geográficas 27°27'38.15" S e 50°50'32.13"W e possui altitude aproximada de 1000 metros. De acordo com a classificação de Köppen (2003), a região está sob o clima Cfb temperado, mesotérmico úmido e verão ameno. A temperatura média está entre os 15°C e 25°C, já a precipitação média anual varia de 1500 e 1700 mm, com chuvas bem distribuídas ao longo do ano. Segundo a Embrapa Solos (2006), solo é classificado como Cambissolo Aplico de Textura Argilosa, com relevo ondulado e por análise de solo contem os atributos descritos na tabela 1.

Tabela 1 - Propriedades químicas do solo antes da instalação do experimento.

Propriedades	Amostras (0-20cm)
pH CaCl ₂	5,7
P (mg dm ⁻³)	25,39
K (cmol dm ⁻³)	0,21
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	11,68
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	5,64
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0
H + Al (cmol _c dm ⁻³)	3,69
MO (g dm ⁻³)	39,9
SB (cmol _c dm ⁻³)	17,53
CTC pH7 (cmol _c dm ⁻³)	21,22
Zn (mg dm ⁻³)	3,84
Fe (mg dm ⁻³)	17,32
V (%)	82,61
Mn (mg dm ⁻³)	20,16
Cu (mg dm ⁻³)	2,35

Fonte: Autor

3.2 SELEÇÃO, CULTIVO E INOCULAÇÃO DAS BACTÉRIAS.

3.2.1 Seleção dos isolados de *Bacillus* sp.

As bactérias utilizadas no estudo foram obtidas por Leoncio (2015) em trabalho de conclusão de curso, nomeado como Isolamento e Caracterização de Rizobactérias do Alho (*Allium sativum*) e Promoção de Crescimento do Milho (*Zea mays*) e passaram a fazer parte da Coleção de Rizobactérias da UFSC *campus* Curitibanos.

Segundo Leoncio (2015), os cinco isolados testados *in vivo* apresentaram potencial para promoção de crescimento da cultura de milho e pelo sequenciamento do gene 16S foram caracterizados como pertencentes ao gênero *Bacillus* sp. Esses isolados são: *Bacillus* sp. EB02, *Bacillus* sp. EB16, *Bacillus* sp. EB12, *Bacillus* sp. EB23 e *Bacillus* sp. EB14.

3.2.2 Cultivo do milho

Para o preparo do inóculo de cada um dos isolados escolhidos, mais três francos para os tratamentos sem inoculação, foram preparados 250mL de meio de cultura Luria Bertani (LB), meio composto por triptona, extrato de levedura e cloreto de sódio (NaCl), totalizando 2 litros do mesmo. Inoculou-se os isolados no meio e os mesmos foram acondicionados em estufa com temperatura controlada de 30°C, por um período de 24h. Os frascos sem isolados (controles) também foram mantidos nas mesmas condições para não haver distinção na metodologia.

3.2.3 Inoculação

As sementes selecionadas foram da Du Pont Pioneer do material 30F53 com gene RR (Roundup Ready) com tratamento de sementes, foram separados 180 sementes por tratamento e acondicionadas nos francos com o inóculo ficando por 2h em repouso (Figura 1), sem realização de desinfecção. Os tratamentos que não foram inoculados também foram acondicionados nos francos contendo apenas o meio de cultura.

Figura 1 - Sementes com e sem inoculação, antes da semeadura.



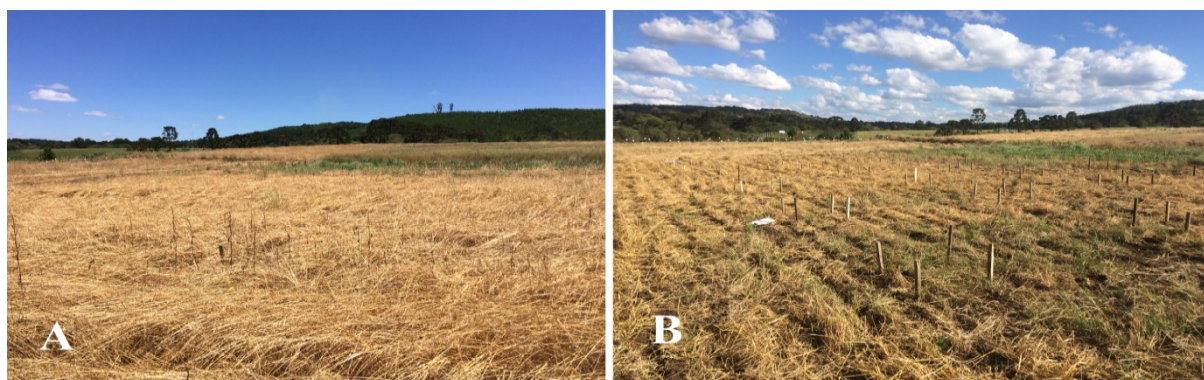
A: Frascos com isolados inoculados sem as sementes; B: Sementes de milho em meio de cultura com os isolados de *Bacillus* sp. Fonte: O autor.

Por fim, as sementes foram dispostas sobre bandejas com papel toalha e levadas à câmara de fluxo laminar, onde permaneceram por uma hora para a secagem.

3.3 SEMEADURA

Antes da semeadura realizou-se a dessecação total da área, como pode ser observada na figura 2, que se encontrava com aveia (*Avena sativa*. L.) e azevém (*Lolium multiflorum*) como plantas de cobertura. A semeadura foi realizada no dia 11 de outubro de 2017, após a área ser preparada. Para garantia do stand foi realizada semeadura manual dupla, dispondo duas sementes por posição com objetivo de não obter falhas dentro das parcelas.

Figura 2 - Área do experimento pré-semeadura.



A: Área dessecada pré-semeadura; B: Área riscada com semeadora vazia e demarcação das parcelas.

Fonte: O autor.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC) com parcelas de três metros de comprimento por quatro metros de largura e quatro repetições, espaçadas entre si por 1 metro. As parcelas foram constituídas por oito tratamentos, como mostra a tabela 2 e dispostos na área como mostra o croqui (Figura 3).

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos experimentais

Tratamentos	Doses de Nitrogênio
T1- Testemunha sem adubação e sem inoculação	-
T2- Sem inoculação e 50% da dose de nitrogênio em cobertura	60kg de N/ha
T3- Sem inoculação e 100% da dose de nitrogênio em cobertura	120kg de N/ha
T4- <i>Bacillus</i> spp EB02	-
T5- <i>Bacillus</i> spp EB16	-
T6- <i>Bacillus</i> spp EB12	-
T7- <i>Bacillus</i> spp EB23	-
T8- <i>Bacillus</i> spp EB14	-

Fonte: O autor

Figura 3 - Croqui da área com a disposição dos tratamentos.

T2	T8	T6	T5	T7	T3	T4	T1
T7	T3	T5	T1	T4	T2	T6	T8
T8	T1	T6	T2	T3	T7	T5	T4
T2	T3	T5	T1	T6	T8	T4	T7

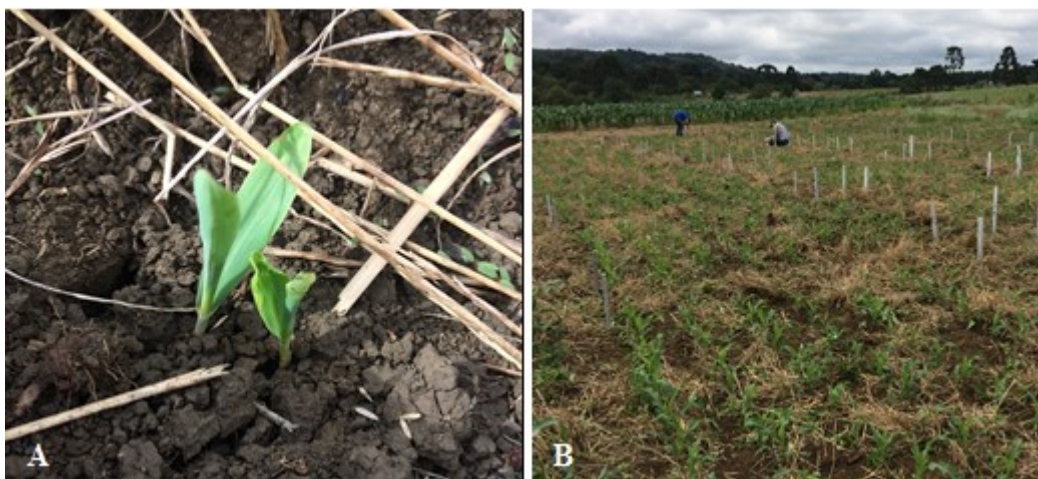
Fonte: O autor.

Cada bloco foi composto por nove linhas de semeadura, com 50 cm de espaçamento entre si. A área útil de cada parcela foi formada por três linhas centrais, descontados 1m de bordadura para cada lado da parcela obtendo ao centro da parcela uma área útil de 1,35m². Os dados então foram analisados através do teste de médias utilizando Scott-Knott a 5% de significância, pelo software Sisvar 5.6.

3.5 TRATOS CULTURAIS

Ao nono dia após a semeadura (DAS) foi realizado o desbaste para extração do excedente de plantas provenientes do plantio duplo. Aos 20 DAS foi realizada uma capina manual para remover as plantas daninhas que por ventura pudessem vim a competir com a cultura por espaço ou mesmo luz, tal prática repetiu-se aos 50 DAS.

Figura 4 - Tratos culturais realizados no experimento.



A: Plantas logo antes do desbaste; B: Área logo após a primeira capina. Fonte: O autor.

A aplicação da adubação nitrogenada, foi realizada com o ureia 45%, produto comercial SuperN, na dose de 120 Kg de N por hectare para dose completa e 60Kg de N por hectare para meia dose, entre os estádios V3-V4 do desenvolvimento do milho.

3.6 AVALIAÇÕES

No presente ensaio foram avaliadas sete características: diâmetro do colmo e espiga (mm), altura da planta (cm), teor de nitrogênio foliar (g kg^{-1}), número de grãos por fileira e espiga e produtividade de grãos (kg ha^{-1}).

3.6.1 Altura de planta

No estágio fenológico de florescimento masculino foi realizada a altura de planta na área útil de cada parcela experimental. A medição da altura da planta foi realizada da

base da planta próxima ao solo até a última folha com uso de uma trena métrica graduada. Foram coletados cinco pontos amostrais no centro de cada repetição e feita à média.

3.6.2 Diâmetro de colmo

No estágio fenológico do florescimento masculino, foi realizado o diâmetro o colmo, mesurado com o auxílio de um paquímetro digital. A aferição foi realizada em cinco plantas dentro da área útil da parcela, levando em consideração o segundo nó acima do solo.

3.6.3 Número de grãos e fileiras por espiga, diâmetro de espigas.

Ao final do ciclo de produção, as plantas da área útil de cada parcela foram colhidas e o número de grão e fileiras foi determinado manualmente e o diâmetro de espigas foi mesurado com o auxílio de um paquímetro digital.

3.6.4 Nitrogênio Foliar

No estágio fenológico florescimento masculino foi avaliado o nitrogênio foliar das plantas encontradas na área útil da parcela. No caso do milho foi retirada a primeira folha oposta abaixo da primeira espiga, onde é cortado o pedaço central da folha desconsiderando as duas extremidades, identificado e armazenado em saco de papel e levado a estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 45°C, onde ficarão por 48h para extração da umidade evitando a oscilação de peso drasticamente e posterior trituração.

O método da análise utilizado é descrito por Tedesco (1995) e baseia na decomposição da amostra a temperatura aproximada de 380°C com ácido sulfúrico concentrado. O nitrogênio presente na solução ácida resultante será determinado por destilação por arraste de vapor, seguida de titulação com ácido diluído (NOGUEIRA; SOUZA, 2005).

3.6.5 Produtividade

Ao final do ciclo foi avaliada a produtividade da cultura, coletando todas as plantas da área útil de cada parcela e batidas manualmente em trilhadora acoplada a um trator (Figura 5). As amostras de grãos foram então levadas à estufa, visando o ajuste do peso seco de grãos para 13% de umidade, para posterior determinação da massa de grãos por unidade de área (kg ha^{-1}).

Figura 5 - Espigas do milho sendo debulhadas em trilhadora acoplada a trator.



Fonte: O autor.

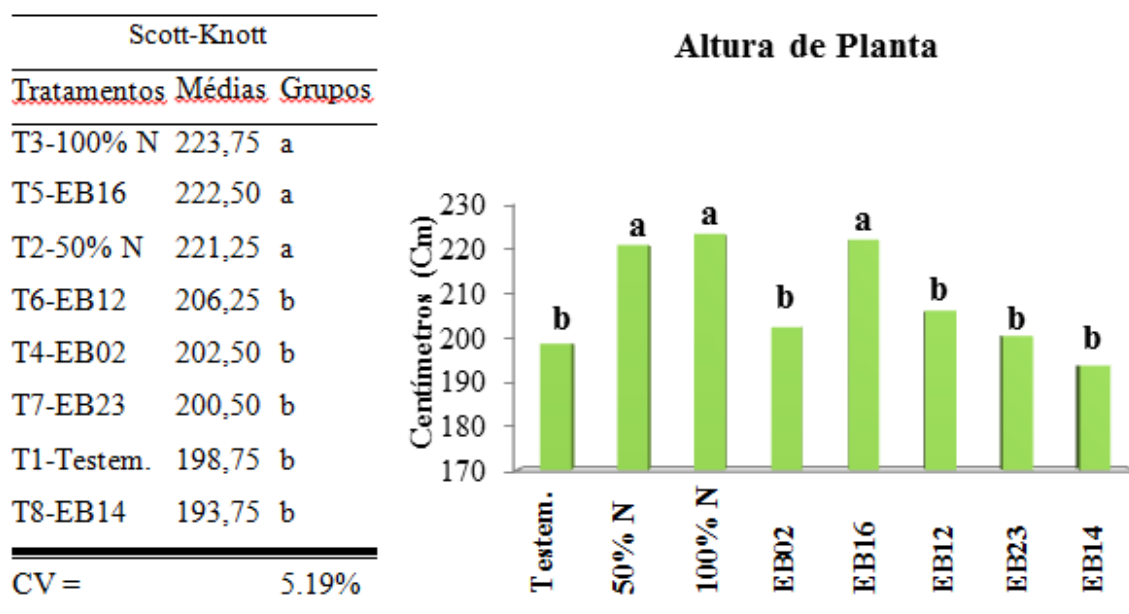
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento, dos sete parâmetros avaliados apenas os parâmetros produtividade e nitrogênio foliar obtiveram coeficiente de variação (CV%) maior que 10%. O coeficiente analisa a precisão do experimento. Isto mostra que houve baixa variação entre os dados obtidos para o presente trabalho.

4.1 ALTURA DE PLANTA

No teste de médias, utilizando Scott-Knott a 5% de significância, houve diferença estatística entre os tratamentos referente ao parâmetro altura de planta como mostra a figura 6.

Figura 6 - Altura de planta 90 DAS.



Grupos relativos a altura de planta dos tratamentos, sendo os que apresentaram melhores médias seguidos da letra a. Fonte: o autor.

Pode-se observar que referente à altura de plantas, os tratamentos T3, T5 e T2 correspondentes a sem inoculação com 100% da dose de nitrogênio em cobertura, Isolado EB16 de *Bacillus* sp. e com 50% da dose de nitrogênio em cobertura, respectivamente, diferiram estatisticamente dos demais tratamentos.

Na figura 6, pode ser observado que o isolado EB16 de *Bacillus* sp. (T5) apresentou média semelhante aos tratamentos que utilizaram adubação nitrogenada em cobertura, indicando que o isolado foi capaz de auxiliar no crescimento da planta tanto quanto a dose de 50% ou 100% de adubação nitrogenada em cobertura.

Entre os três tratamentos que se destacaram, houve diferença de 2,5cm na altura das planta. O T5- isolado EB16 de *Bacillus* sp. apresentou incremento de 1,25cm em relação ao tratamento com 50% da dose de N e decréscimo de 1,25cm em relação ao tratamento com 100% de N. Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Lobo (2018), em que a inoculação com diferentes bactérias endofíticas do gênero *Bacillus*, demonstrou ser eficiente para a promoção do crescimento de plantas de milho tanto em casa de vegetação, quanto em campo. Isso reforça os resultados encontrados, inclusive por Leoncio (2015) em que os isolados apresentaram médias de alturas semelhantes ao da adubação de 100% de nitrogênio. Araújo (2008) concluiu que isolados de *Bacillus subtilis*, juntamente com formulado de farinha de ostras e inoculado nas sementes de milho apresentaram potencial para incrementar o crescimento e a nutrição das plantas de milho. A utilização de *Bacillus subtilis*, também possibilitou desenvolvimento da massa fresca da parte aérea de milho em aproximadamente 15% (MAZZUCHELLI; SOSSAI; ARAUJO, 2014).

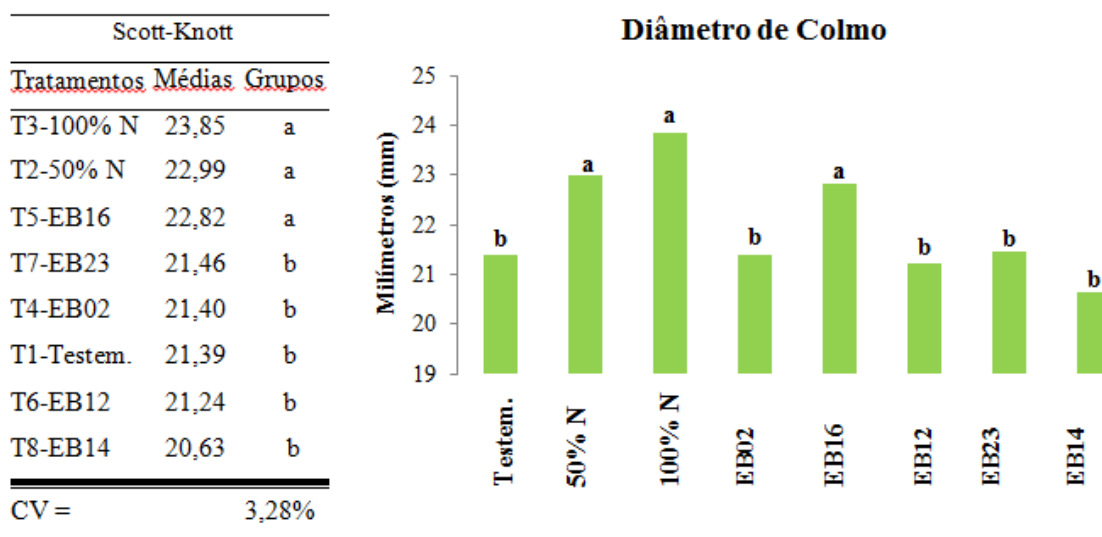
O comprimento de plântula e raízes primárias são parâmetros importantes para avaliar o desenvolvimento das plantas através da altura. Estudo realizados por Oliveira et al. (2016), com sementes de alto vigor associadas com o produto a base de *Bacillus subtilis* apresentaram incremento no comprimento de plântula e comprimento de raiz primária de feijoeiro, beneficiando de forma significativa o desenvolvimento inicial do mesmo.

A capacidade de promover um incremento na altura de planta é também realizado por outras rizobactérias, como é mostrado por Braccini et al. (2010) que analisaram a eficiência da inoculação de sementes de milho com e sem nitrogênio e *Azospirillum* e verificaram que os tratamentos inoculados com a bactéria *Azospirillum* proporcionaram maior altura de planta.

4.2 DIÂMETRO DE COLMO

Houve diferença estatística entre os tratamentos como pode ser observado na figura 7.

Figura 7 - Diâmetro do colmo (mm) 90 DAS.



Grupos relativos ao diâmetro de colmo dos tratamentos, sendo os que apresentaram melhores médias seguidos da letra a. Fonte: o autor.

Nesta variável, pode se observar que houve diferença estatística entre os tratamentos, sendo os tratamentos T3, T2, e T5 correspondentes a sem inoculação com 100% da dose de nitrogênio em cobertura, com 50% da dose de nitrogênio em cobertura e Isolado EB16 de *Bacillus* sp., os tratamentos que apresentaram as melhores médias, respectivamente.

O tratamento com 100% de N apresentou melhor desenvolvimento que os demais tratamentos, com 0,86mm a mais de diâmetro de colmo que o tratamento com 50% da dose de N e 1,03mm a mais que o EB16. Porém, estatisticamente, os três tratamentos não diferiram entre si.

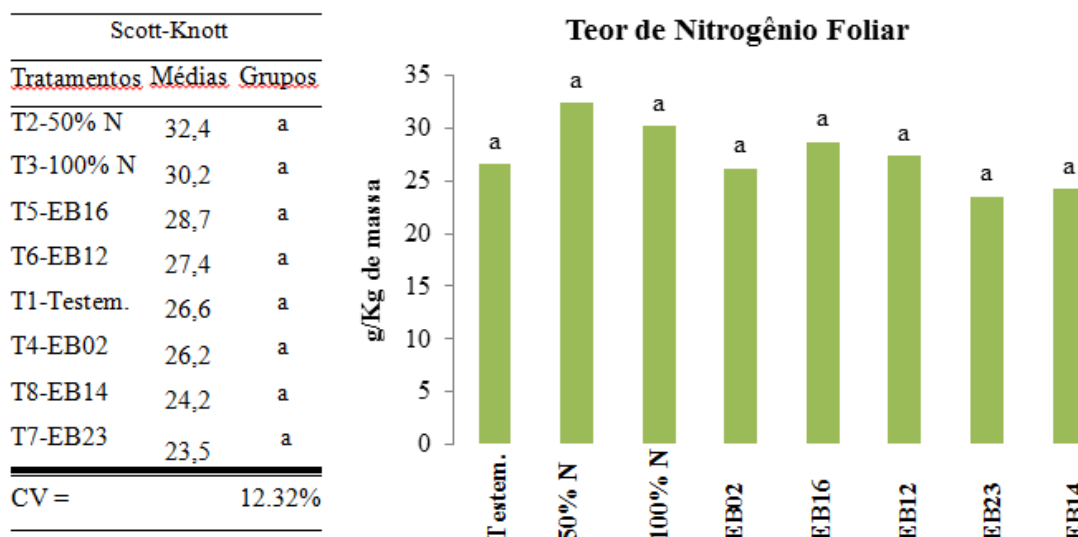
O efeito no diâmetro foi avaliado em outras rizobactérias. Dartora et al., (2013) testaram a combinação das estirpes Ab-V5(*A. brasilense*) e SmR1(*H. seropedicae*) e observaram que na fase vegetativa, o diâmetro basal do colmo em relação à testemunha, teve um incremento de 15% e segundo eles, tal efeito pode ser associado a promoção do crescimento proporcionado pelas bactérias diazotróficas.

Em seu estudo, Santos et al. (2013) observaram o que as BFN (bactérias fixadoras de nitrogênio) proporcionaram significativo aumento no diâmetro de colmo, favorecendo o melhor transporte de água e nutrientes. Maiores diâmetros de colmo são importantes por apresentarem maior resistência ao acamamento e tombamento e contribuírem com aumentos de produtividade, devido a maior capacidade de armazenamento de fotoassimilados (KAPPES et al., 2011).

4.3 NITROGÊNIO FOLIAR

Não houve diferença estatística entre os tratamentos:

Figura 8 - Teor de N foliar.



Grupos relativos a média de gkg^{-1} do teor de N foliar dos tratamentos, sendo os que apresentaram melhores médias seguidos da letra a. Fonte: o autor.

Para o teor de nitrogênio foliar não houve diferença estatística, o que mostrou que as quantidades de nitrogênio absorvidas pelas plantas se assemelharam. Dos parâmetros avaliados, este foi o que apresentou maior CV(%) (figura 8). O incremento observado em outros parâmetros, possivelmente, deveu-se a outros mecanismos de promoção de crescimento e o parâmetro em questão, pode ter sido influenciado pelo alto nitrogênio residual do solo ou mesmo pelo elevado valor de matéria orgânica presente no solo.

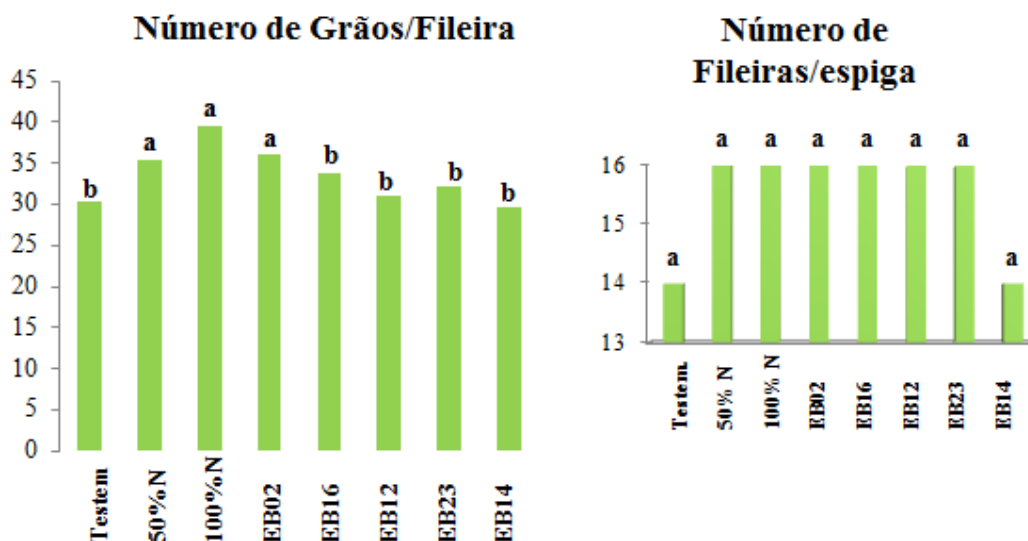
O teor de nitrogênio possibilita avaliar o estado nutricional da planta (TEDESCO,1995). Os valores obtidos, encontraram-se dentro da faixa de normalidade, entre 0,5 e 5ml, valor obtido como quantidade de ácido pipetado para encontrar o teor de N. Para a verificação da concentração de nitrogênio nas folhas, seria necessária a avaliação da massa verde que não foi realizada. Entretanto, diversos trabalhos indicam ação positiva da inoculação de *Bacillus* sp. na acumulação de N. Araújo (2008) que em seu trabalho utilizando *B. subtilis* (estirpe PRBS-1) formulado com farinha de ostras em casa de vegetação, verificou um aumento na concentração de nitrogênio nas folhas de milho. O mesmo é mostrado por Lima et al. (2011) que concluíram em seu trabalho que a inoculação de *Bacillus subtilis*, apresentou efeito positivo na acumulação de nitrogênio na parte área da planta, melhorando seu desenvolvimento e aumentando a produtividade de grãos.

Outras rizobactérias também mostraram aumentos nas concentrações de nitrogênio nas folhas. Zamariolli e Galvão (2012) observaram que a inoculação com *Azospirillum brasiliense* no milho, promoveu aumento nos teores de nitrogênio da raiz, na parte aérea e na produtividade, mas sem aumento nos teores de nitrogênio nos grãos.

4.4 NÚMERO DE GRÃOS POR FILEIRA E FILEIRAS POR ESPIGA

Houve diferença estatística entre os tratamentos:

Figura 9 – Número de grãos por fileira e número de fileiras por espiga.



Grupos relativos ao número de fileiras/espiga e grãos/fileira dos tratamentos, sendo os que apresentaram melhores médias seguidos da letra a. Fonte: o autor.

Pode-se observar que o parâmetro número de fileiras por espiga não apresentou diferença estatística entre os tratamentos, variando apenas, o número de fileiras entre 14 e 16. Já no número de grãos por fileira houve diferença estatística, sendo os tratamentos T3, T4 e T2 correspondentes a adubação com 100% da dose de nitrogênio em cobertura, Isolado EB02 de *Bacillus* sp. e com 50% da dose de nitrogênio em cobertura, respectivamente foram os melhores tratamentos (figura 9).

O *Bacillus* sp. isolado EB02 (T4) não diferiu estatisticamente da doses de 50% e 100% de N. Entretanto, o isolado obteve um grão a mais por fileira que a dose de 50% de N e o tratamento com 100% de N apresentou 3,49 grãos a mais por fileira que este.

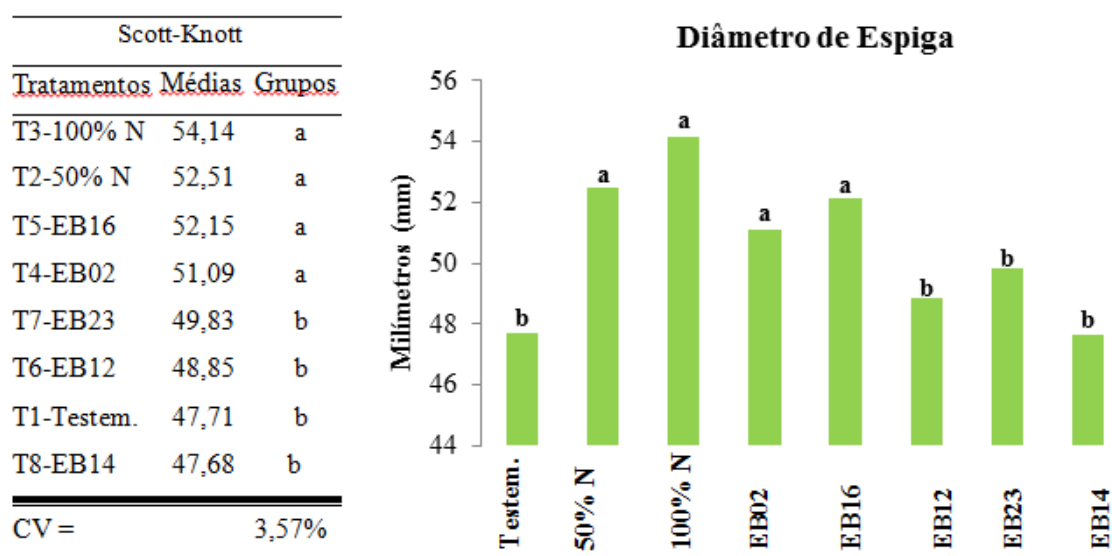
O número de grãos por fileira está diretamente ligado ao comprimento de espiga que, por sua vez, é um dos atributos que pode afetar a produtividade de grãos. Com isso, constitui-se em importante variável a ser analisada na cultura do milho. Em um estudo com *Azospirillum brasilense*, Cavallet et al. (2000) encontraram aumento no comprimento médio das espigas de milho, de 13,6 para 14,4 cm, ou seja, aumento

médio de 6%. Entretanto, Lana et al. (2017) que este parâmetro não foi influenciado pela aplicação de doses crescentes de N, com ou sem inoculação na semente.

4.5 DIÂMETRO DE ESPIGA

Houve diferença estatística entre os tratamentos:

Figura 10 - Diâmetro de espiga



Grupos relativos ao diâmetro de espigas dos tratamentos, sendo os que apresentaram melhores médias seguidos da letra a. Fonte: o autor.

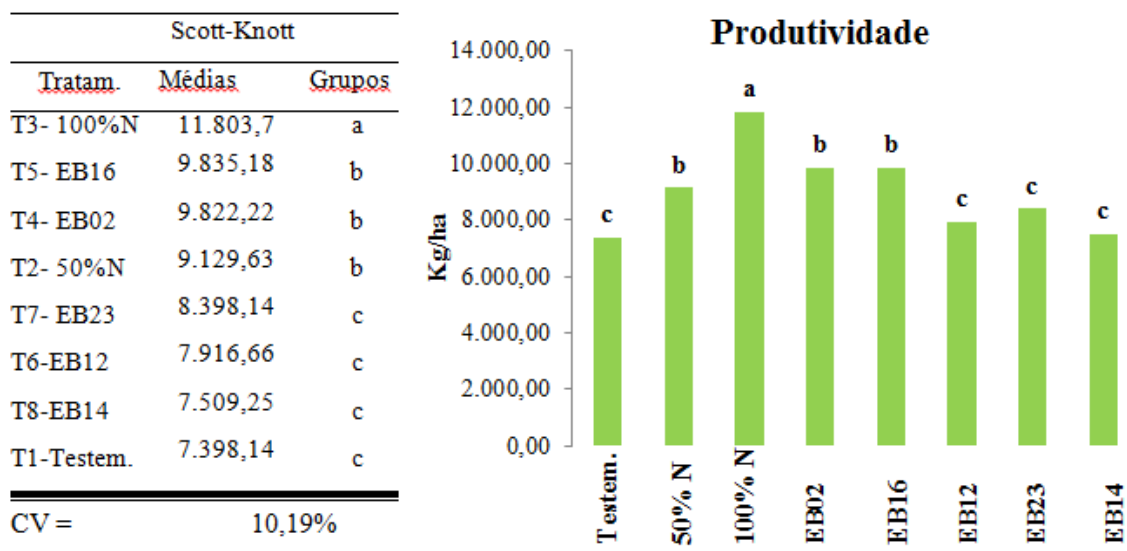
Para o diâmetro de espigas, pode-se observar que houve diferença estatística entre os tratamentos T3, T2, T5 e T4 correspondentes a 100% da dose de nitrogênio em cobertura, 50% da dose de nitrogênio em cobertura, Isolado EB16 de *Bacillus* sp. e Isolado EB02 de *Bacillus* sp. Esses apresentaram as melhores médias, diferindo do controle.

Neste caso, 100% da dose de N apresentou o maior diâmetro, sendo equivalente a 54,14mm. Os tratamentos (T3, T2, T5 e T4) apresentaram média de diâmetro superior a 50mm, enquanto os demais não alcançaram tal marca.

4.6 PRODUTIVIDADE

Houve diferença estatística entre os tratamentos:

Figura 11 – Produtividade.



Grupos relativos ao diâmetro de espigas dos tratamentos, sendo os que apresentaram melhores médias seguidos da letra a. Fonte: o autor.

Para a produtividade, pode-se observar que houve diferença estatística entre os tratamentos, sendo os tratamentos T3 correspondentes com 100% da dose de nitrogênio em cobertura o melhor tratamento. Em seguida, os tratamentos T5, T4 e T2 correspondentes a Isolado EB16 de *Bacillus* sp., Isolado EB02 de *Bacillus* sp. e com 50% da dose de N, respectivamente apresentaram as melhores médias. Observou-se que a área útil da parcela era relativamente pequena, necessitando de ampliação da área experimental para melhor verificação dos efeitos da inoculação.

A dose de 100% de N em cobertura proporcionou maior produtividade média, registrando 11.803,7kg/ha, 17% maior que o segundo melhor tratamento correspondente ao isolado EB16.

Os isolado EB16 e EB02 apresentaram capacidade produtiva semelhante a 50% da dose de N, sugerindo que as bactérias inoculadas são tão eficientes quanto este tratamento. Os isolado EB16 e EB02 apresentaram produtividade 24,7% maior que a testemunha.

Esse aumento na produtividade também foi encontrado por Lima et al. (2011), em que constataram que a inoculação das sementes de milho com *Bacillus subtilis*

melhorou o desenvolvimento e aumentou a produtividade de grãos. Bassi (2013) observou que a inoculação, apesar de não apresentar diferenças estatísticas, proporcionou incrementos de 1,4 e 1,7% na massa de mil grãos, sugerindo que as bactérias auxiliam a desenvolvimento de plantas para tal parâmetro. Quadros et al.(2014) encontraram interação entre a inoculação e híbridos ou cultivares de milho. Esta pode ser mais eficiente em determinados híbridos em relação a outros, quando analisada a produtividade.

5 CONCLUSÃO

Os isolados EB02 e o EB16 de *Bacillus* sp. se assemelharam aos tratamentos que utilizaram adubação nitrogenada, indicando potencial de promoção de crescimento e produção do milho. A eficiência destes isolados pode possibilitar sua futura utilização como inoculante para a cultura do milho, especialmente na região de Curitiba.

REFERÊNCIAS

- ALVES, B. M.; CARGNELUTTI FILHO, A.; TOEBE, C. B. M. et al. Divergência genética de milho transgênico em relação à produtividade de grãos e da qualidade nutricional. **Ciência Rural**, Santa Maria v.45, n.5, p.884-891, 2015.
- AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, 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 plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.241-248, 2002.
- ARAÚJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciênc. agrotec.** vol.32 no.2 Lavras Mar./Apr. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000200017>>. Acesso em: 10 out 2018.
- ARAÚJO, L. A. N.; FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 8, p. 771- 777, 2004.
- ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Microrganismos de importância agrícola**. Brasília: Embrapa-CNPAF, 1994. p. 217
- ASGHAR, H.; ZAHIR, Z.; ARSHAD, M.; KHALIQ, A. Relationship in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *brassica juncea* L. **Biology and fertility of soils**, Berlin, v.35, p231-237, 2002.
- BALDANI, J. I.; REIS, V. R. S.; Teixeira, K. R. S.; BALDANI, V. L. D. **Potencial Biotecnológico de bactérias diazotróficas associativas e endofíticas**. In: SERAFINE, L.A.,
- BARROS, N.M., AZEVEDO, J.L. (Org). **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002. p. 195-232
- BARROS NETO, C. R. de. **Efeito do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* no rendimento de grãos de milho**. 2008. 29f. Monografia. Trabalho de Graduação em Agronomia – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná, 2008.
- BASSI, Simoni. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Área de Concentração de Produção Vegetal). Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.
- BATISTA. B.D; (2017) **Promoção de crescimento vegetal por *Bacillus sp* . RZ2MS9 : dos genes ao campo**. 107 f. Tese (Doutorado) USP - Escola Superior de Agricultura —Luiz de Queiroz.

BRACCINI, A. L.; ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, L. P.; CATO, S. C.; BARBOSA, M. C. **Eficiência da inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. na cultura do milho.** Maringá, 2010.

BRAGA JUNIOR, Gaspar Moreira. **EFICIÊNCIA DE *Bacillus subtilis* NO BIOCONTROLE DE FITOPATÓGENOS E PROMOTOR DE CRESCIMENTO VEGETAL.** 2015. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi - To, 2015.

CAMPOS SILVA, J.R.; SOUZA, R.M.; ZACARONE, A.B.; SILVA, L.H.C.P.; CASTRO, A.M.S. Bactérias endofíticas no controle e inibição in vitro de *Pseudomonas syringae* pv. tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1062-1072, 2008.

CASTRO, L. R.; REIS, T. C.; FERNANDES JÚNIOR, O.; ALMEIDA, R. B. S.; ALVES, D. S. Doses e formas de aplicação de fósforo na cultura do milho. **Revista Agrarian**. V.9, n. 31, p. 4-54, 2016.

CATTELAN, A. J. **Métodos quantitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras do crescimento vegetal.** Londrina: EMBRAPA soja, 1999. 36p. (EMBRAPA soja. Documentos 139).

CAVALLET, L. E. et al. **Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp.** 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662000000100024>. Acesso em: 10 out 2018.

CHIARINI, L.; BEVIVINO, A.; TABACCHIONI, S.; DALMASTRI, C. Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. On *Sorghum bicolor*: root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. **SOIL Biology and Biochemistry**. Rome, v. 30, p. 81-87, 1998.

COELHO, Luciana Fontes. **Interação *Pseudomonas* spp. e de *Bacillus* spp.com diferentes rizosferas.** 2006. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Instituto Agronomico, Campinas, 2006.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos.** Disponível em: <<file:///C:/Users/Samsung/Downloads/BoletimZGraosZsetembroZ2018.pdf>> Acesso em: 06 out.2018.

COMPANT, S. et al. Use of beneficial bacteria and their secondary metabolites to control grapevine pathogen diseases. **BioControl**, v. 58, n. 4, p. 435 - 455, 2013.

CRUZ, J.C et al., (2008) **A cultura do milho**, Sete Lagoas, MG. EMBRAPA. 517p

DARTORA, Janaína et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum* brasilense e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista**

Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande-pb, v. 17, n. 10, p.1023-1029, jun. 2013.

DIAS, L. P.R. **Fósforo E Boro Na Adubação De Eucalyptus Dunnii E Eucalyptus Benthamii Em Solos Do Planalto Sul Catarinense**. Tese Doutorado, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages - Santa Catarina, 2016.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Washington, v. 22, n.2, p. 107-149, 2003.

Doty S.L (2013) Endophytic Yeasts: Biology and Applications In: Aroca R. Symbiotic Endophytes. v 37. p. 335-343

EMBRAPA. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa soja, 2011.

Fancelli AL, Dourado Neto D (2008) **Produção de milho**, 2. ed. Embrapa Gado de Leite., Piracicaba.

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

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

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

FERNANDES, R. H.; VIEIRA, B. S.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* E M. *Javanica* em mudas de tomateiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p.194-200, jan.-fev. 2014.

(FIESP), Federação das Indústrias do Estado de São Paulo. **5º levantamento USDA da safra 2018/19**: boletim informativo setembro 2018. São Paulo: Fiesp, 2018.

Francis I, Holsters M, Vereecke D (2010) The Gram-positive side of plant-microbe interactions. *Environmental Microbiology* 12: 1–12.

FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; DONZELI, V. P.. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v. 27, n. 1, p.61-70, fev. 2003.

FRITZ, L. L.; BERLITZ, D. L.; MACEDO, V. R. M.; MACHADO, V.; FIUZA, L. M. Frequência de *Bacillus spp.* em solos de diferentes sistemas de cultivo de arroz irrigado em Cachoeirinha, RS. **Bragantia**, Campinas, vol. 69, n. 2, p. 405-412, 2010.

GARCIA, G. R. **Caracterização microbiológica e avaliação de uma cepa de *Bacillus subtilis* no desempenho de bezerros da raça holandesa.** 2008. 68 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 46 2008.

GLICK, B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, p.1-15, 2012.

GONÇALVES, J. J. M.; SANTARELLI, E.; MORAES NETO, P. MANARA, M. P. Produção de mudas de espécies nativas: substrato, nutrição, sombreamento e fertilização. In: GONÇALVES, J. L. M.; BENEDETTI, V. **Nutrição e fertilização florestal.** Piracicaba: IPEF, 2000. p. 310-350.

GOVINDAPPA, M.; RAVISHANKAR RAI, V.; LOKESH, S. Induction of resistance against Cercospora leaf spot in safflower by seed treatment with plant growthpromoting rhizobacteria. **Archives Of Phytopathology And Plant Protection**, v. 47, n.20, 2014.

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracelular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.37, n.3, p. 395-412, 2005.

GUIMARÃES, A.M; PAZ, I.C.P; SANTIN, R.D.C.M; PAULI, G.; SILVA, M.E.; SOUZA, R.; SILVA, E. Utilização da rizobactéria bacillus amyloliquefaciens na promoção de crescimento de alface (*Lactuca sativa L.*), em cultivo agroecológico. **Caderno de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 8, n. 2, p. 1-6, 2013. Apresentado In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 8., 2013. Porot Alegre.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH. L. J. POODEL, P. S. Role of soil microorganims in improving P nutrition of plants. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 245, p. 83-93, 2002.

HARMAN, Gary E. et al. Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature reviews microbiology**, Geneva-Nova York, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HOEFT, R. G. Desafios para a obtenção de altas produtividades de milho e de soja nos EUA. **Informações Agronômicas**, n. 104, p. 1-4, 2003.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. S.; CHUEIRE, L. A. O.; PROBENZA, A.; GUTTIERREZ-MANERO, F. J.; MEGIAS, M. Isolation and characterization of new efficient competitive bean (*Phaseolus vulgaris L.*) rhizobia from Brazil. **Soil Biology & Biochesmistry**, Oxford, v. 32, n. 11-12, p. 1515-1528. 2000.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; CHUEIRE, L.; MEGÍAS, M. Symbiotic effectiveness of fast-growing rhizobial strains isolated from soybean nodules in Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 33, n.5, p. 387-394, 2001.

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

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; GRAHAM, P.H.; The importance of nitrogen fixation to soybean cropping in South America. In: WERNER, D.; NEWTON, W. (Ed.) **Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment**. Dordrecht: Springer, 2005. P. 25-42

KAPPES, C.; ANDRADE, JÁ.; ARF, O.; OLIVEIRA AC.; ARF MV & Ferreira JP (2011) **Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas**. *Bragantia*, 70:334-343.

KISS, T.; FARKAS, E. Metal-binding ability of desferrioxamine **Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition**, v.32, p.385–403, 1998.

Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas / Eds. Adriano Tosoni da Eira Aguiar, Charleston Gonçalves, Maria Elisa Ayres Guidetti Zagatto Paterniani; et al. 7.^a Ed. rev. e atual. Campinas: Instituto Agrônômico, 2014. 452 p. (Boletim IAC, n.º 200).

JONES, D.; SMITH, B. F. L.; WILSON, M. J.; GOODMAN, B. A. Phosphate solubilizing fungi in a scottish upland soil. **Mycological Research**, Oxford, v. 95, n. 9, p. 1090-1093, 1991.

KHAN, A. G. Role of soil microbes in the rizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. **Journal of Trace Elements in Medicine in Biology**, Jena, v. 18. n. 4, p.355-364. 2005.

KLOEPPER, Joseph W. Current status and future trends in biological research and development in the U.S. **Anais do Intenational Symposium on clean agriculture**, Japan, v. 1, p. 49-52, 1997.

KUPPER, K.C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n.3, p. 251-257, 2003.

LANA, Regina Maria Quintão et al. Associação entre doses de nitrogênio e inoculação das sementes com bactéria diazotrófica no Milho. **Revista de La Facultad de Agronomía**, La Plata, v. 116, n. 2, p.171-178, 28 nov. 2017.

LEONCIO, Mariane da Rosa. **Isolamento e caracterização de rizobactérias do alho (*allium sativum*) e promoção de crescimento do milho (zea mays)**. 2015. 32 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2015.

LIMA, F. F., NUNES, L. A. P. L., FIGUEIREDO, M. V. B., ARAÚJO, F. F., LIMA, L. M. & ARAÚJO, A. S. F. 2011. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 6, 657-661.

LUZ, W. C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J. M. C.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed). **Revisão anual de patologia de plantas (RAPP)**. Passo Fundo: Padre Berthier dos Missionários da Sagrada Família, 1996. v. 4, p. 1-49.

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

Mahmood A, Turgay OC, Farooq M, Hayat R (2016) Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: A review. *FEMS Microbiology Ecology* 92: 1–14.

MANTELIN, S. & TOURAINÉ, B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability : impacts on root development and nitrate uptake. *Journal Exp Bot*, n. 55, p. 27–34, 2004.

MARCHI, Sérgio Luiz. **Interação Entre Desfolha e População de Plantas na Cultura do Milho na Região Oeste do Paraná**. 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2008.

MARIANO, Rosa LR; SILVEIRA, Elineide B.; GOMES, Andréa M.A. Controle biológico de doenças radiculares. **Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais**, p. 303, 2005.

MOREIRA, F. M. S.; DA SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; DE CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v.1, n.2, p.74-99, 2010.

MORTATE, R. K.; NASCIMENTO, E. F.; GONÇALVES, E. G. S.; LIMA, M. W. P. Resposta do milho (*Zea mays* L.) à adubação foliar e via solo de nitrogênio. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 5, n. 1, p. 1-6, jan./mar. 2018.

NAHAS, E. **Ciclo do fósforo**: transformações microbianas. Jaboticabal: FUNEP, 1991, 67p.

NEUBAUER, U.; FURRER, G.; KAYSER, A.; SCHULIN, R.; Siderophores, NTA, and citrate: potential soil amendments to enhance heavy metal mobility in phytoremediation. **International Journal of Phytoremediation**, v.2, p.353–368, 2000

NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. **Manual de laboratórios**: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313 p.

NORMAN, M. J. T.; PEARSON, C. J.; SEARLE, P. G. E. **The ecology of tropical food crops**. 2. ed. Melbourne: Cambridge University Press, 1995. 430 p
o início de cada seção deve começar no anverso/frente da folha.

OHLAND, R. A. A.; SOUZA, L. C. F.; HERNANI, L. C.; MARCHETTI, M. E.; GONÇALVES, M. C. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras-MG, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005.

OLIEVEIRA, G.R.F et al., CRESCIMENTO INICIAL DO FEIJOEIRO EM FUNÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES E INOCULAÇÃO COM *Bacillus subtilis*, **Brazilian Journal of Biosystems Engineering** v. 10 n. 4, p. 439-448, 2016

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência à doenças. In: LUZ, W.C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Vol. II. Passo Fundo, RAPP, p.1-52. 1994.

PATTEN, C.L.; GLICK, B.R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, v.42, p.207–220, 1996.

PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. **Plant Cell and Environment**, v.26, p.186–199, 2003.

PIONNER. Efeitos do nitrogênio. **Revista Área Polo**, São Paulo, v. 5, n. 11, p. 12-6, 1995.

POLANCZYK, R. A. Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando o controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith). **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

QUADRO, Patricia Dörr de et al. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, Viçosa, Mg, v. 61, n. 2, p.209-218, mar/abr, 2014.

RAMBO, L. et al. Monitoramento do nitrogênio na planta e no solo para predição da adubação nitrogenada em milho. **Pesquisa Agropecuárias Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 3, p. 407-417, 2007.

RATZ, Raquel Jacheline et al. Potencial biotecnológico de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de milho e soja. **Engevista**, Rio de Janeiro-RJ, v. 19, n. 4, p.890-905, out. 2017.

RESENDE, A.V.; FURTINI NETO, A.E.; ALVES, V.M.C.; MUNIZ, J.A.; CURI, N.; FAQUIN, V.; KIMPARA, D.I.; SANTOS, J.Z.L.; CARNEIRO, L.F. Fontes e modos de aplicação de fósforo para o milho em solo cultivado da Região do cerrado, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.453- 466, 2006.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. **Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion**. **Biotechnology Advances** 17 (1999) 319–339. Disponível em: <<http://www.bashanfoundation.org/hilda/hildaphosphate.pdf>>. Acesso em: 10 out 2018.

SAHARAN, B. S. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life Sciences and Medicine Research**, 2011.

SANTOS, O. J. S. P. dos; MILANI, K. M. L.; MOREIRA, G. G.; ZUCARELLI, J.V.; LIMA, G. de; TAKAHASHI, B. Y.; ZUCARELI, C.; OLIVEIRA, A. L. M. de. Avaliação da arquitetura de plantas de milho inoculadas com diferentes estirpes de bactérias promotoras do crescimento vegetal. **BBR – Biochemistry and Biotechnology Reports**. Londrina, v. 2, n. 3, p. 384-387, 2013.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Solubilização de fosfatos por microrganismos na presença de fontes de carbono. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, n. 2, p. 311-319, 2000.

SOUCHIE, E. L.; ABBOUD, A. C.S.; CAPRONI, A. L. Solubilização de fosfato *in vitro* por microrganismos rizosféricos de guandu. **Ciência Agrária, Londrina**, v.23, p.53-60, 2007.

SUNDERMAN, H. D.; PONTIUS, J. S.; LAWLESS, J. R. Variability in leaf chlorophyll concentration among fully-fertilized corn hybrids. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 28, n. 19, p. 1793-1803, 1997

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise do solo, planta e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 1995. 174 p.

THRANE, C.; NIELSEN, T.H; NIELSEN, M.N; SORENSEN, J.; OLSSON, S. Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens DR54* exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, Frederiksberg, v.33, p. 139-146,2000.

TSAVKELOVA, E.A.; KLIMOVA, S. Y.; CHERDYNTSEVA, T. A.; NETRUSOV, A. I. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.42, p.117–126, 2006.

TSAVKELOVA, E.A.; CHERDYNTSEVA, T.A.; KLIMOVA. S.Y., SHESTAKOV, A.I.; BOTINA, S.G.; NETRUSOV, A.I. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. **Archives of Microbiology**. v.188, p.655–664, 2007.

TIRITAN, C. S.; SANTOS, D. H.; BORDINI, R. A.; FOLANI, J. S. S.; ONISHI, R. Y. Produção de matéria seca de milho em função da adubação fosfatada mineral e organomineral. **Colloquim Agrariae**. V. 6, n. 1, p. 01-07, 2010

TOLLENAAR, M.; DWYER, L. M. Physiology of maize. In: SMITH, D. L.; HAMEL, C. (Ed.). **Crop yield, physiology and processes**. Berlin: Springer-Verlag, 1999. cap. 5. p.169-201

TORRES JÚNIOR, Carlos Vergara. **Influência dos fungos dark septate sobre absorção de nutrientes e crescimento de plantas de arroz e tomate**. 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de PÓS-graduaÇÃO em Agronomia Ciência do Solo,

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Instituto de Agronomia, Seropédica, 2014.

ZAADY, E.; PEREVOLOTSKY, A.; OKON, Y. Promotion of plant growth by inoculum with aggregated and single cell suspensions *Azospirillum brasilense* Cd. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 25, p. 819-823, 1993.

ZAMARIOLLI, L. E. R.; GALVÃO, M. A. K.; **Efeitos de métodos de aplicação do inoculante *Azospirillum brasiliense* sobre o acúmulo de nitrogênio e produtividade no milho safrinha**. 3º Enc MAP. Encontro de Mecanização de Agricultura de Precisão. 12 a 14