

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS – UniEVANGÉLICA
CURSO DE AGRONOMIA**

**DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MILHO COM INOCULAÇÃO DE
BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO**

Rafaela Miguel Vieira

**ANÁPOLIS-GO
2020**

RAFAELA MIGUEL VIEIRA

**DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MILHO COM INOCULAÇÃO DE
BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro Universitário de Anápolis- UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Área de concentração: Fitotecnia

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Cláudia Fabiana Alves Rezende

**ANÁPOLIS-GO
2020**

Vieira, Rafaela Miguel

Desenvolvimento inicial do milho com inoculação de bactérias promotoras de crescimento/ Rafaela Miguel Vieira. – Anápolis: Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2020.

32 páginas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cláudia Fabiana Alves Rezende

Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia – Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA, 2020.

1. *Bacillus subtilis* 2. *Azospirillum brasilense* 3. *Zea mays*. I. Rafaela Miguel Vieira. II. Desenvolvimento inicial do milho com inoculação de bactérias promotoras de crescimento.

CDU 504

RAFAELA MIGUEL VIEIRA

**DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MILHO COM INOCULAÇÃO DE
BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO**

Monografia apresentada ao Centro
Universitário de Anápolis –
UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.
Área de concentração: Fitotecnia

Aprovada em: 15 de dezembro de 2020

Banca examinadora

Cláudia F. A. Rezende

Prof^ª. Dr^ª. Cláudia Fabiana Alves Rezende
UniEvangélica
Presidente

Lucas José de Souza

Me. Lucas José de Souza
Membro Externo

Jordana Alves Melo

Membro Externo

Esp. Jordana Alves da Silva Melo

Dedico esse trabalho a minha família, meus pais e irmãs que tanto me amam, e meus amigos e namorado, que viveram comigo momentos inesquecíveis e são alento nas horas tristes.

AGRADECIMENTOS

Início agradecendo a força maior que ao mundo rege, sua suprema decisão me trouxe aos caminhos que hoje trilho, e me demonstra todos os dias que nas coisas simples reside à felicidade, advinda da honestidade, caridade e amor.

Não menos importante agradeço a minha família, pais, irmãs, tias, tios, avós e primos, por me incentivar e apoiar, seguindo eu o caminho que for. Através dos exemplos massivos de honestidade, meu pai Otomilton me ensinou que passar por cima dos outros não é caminho, e que as coisas pequenas importam tanto quanto as grandes.

A minha amada mãe Isamar, agradeço por tanto amor e batalhas suportadas no dia a dia, e pelo exímio potencial em dialogar, ensinando que conversar é alento para alma e solução para a maioria dos problemas. As minhas irmãs, Mariana e Gabriela, agradeço pela companhia diária, as conversas diversas e a felicidade do cotidiano.

Não poderia deixar de agradecer aos meus amigos do IFG e ao meu namorado Gabriel, que participaram da fase mais transformadora do meu ser, descobrir a consciência de classe, o enraizamento dos preconceitos da sociedade e as adversidades políticas ao lado de vocês fez toda a diferença. Em especial as minhas melhores influências e confidentes, Thábita e Jessica. Aos meus amigos da faculdade agradeço pela oportunidade de vivenciar realidades tão diferentes, pela diversão em momentos difíceis e companheirismo em trabalhos e provas.

Ao longo dos cinco anos de faculdade tive a oportunidade de estagiar em três lugares bastante opostos, mas que auxiliaram na minha formação. No primeiro estágio na AABB, compreendi a importância da ciência na transformação do aprendizado e na mudança da realidade das pessoas, no segundo lugar a EMATER descobri minha paixão pela apicultura e no último estágio na Planejar, foi onde descobri o que planejo exercer dentro da profissão.

Minha caminhada foi muito influenciada por todos os que passaram e estão nela, vocês são os pilares e bases para a pessoa que sou, muito obrigada!

“Há todo um velho mundo ainda por destruir e todo um novo mundo a construir”.

Rosa Luxemburgo.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	10
2.2. ORIGEM, MORFOLOGIA E FISILOGIA DO MILHO	11
2.3. O USO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO.....	13
2.3.1. <i>Azospirillum</i> spp.....	14
2.3.2. <i>Bacillus</i> spp.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÃO.....	23
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

RESUMO

A agricultura no Brasil importa a maioria dos fertilizantes químicos, o que eleva os custos de produção, uma nova linha de pesquisa tem surgido como alternativa viável a esse problema, o uso de promotores de crescimento, que permitem otimizar a eficiência de uso desses insumos. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito das bactérias promotoras de crescimento sobre o desenvolvimento inicial do milho. O experimento foi desenvolvido no município de Anápolis. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, sendo quatro blocos, quatro tratamentos, com 10 repetições cada. As unidades experimentais foram constituídas de copos plásticos de 400 ml, preenchidos com 1/3 de areia e 2/3 de solo. Os tratamentos foram: T1 – inoculação com *Azospirillum brasilense*; T2 - inoculação com *Bacillus subtilis*; T3 - inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis*; T4 – testemunha (sem inoculação). Para a inoculação das sementes foram utilizados para 1.000 sementes 1,0 ml de inoculante para o *A. brasilense* e 2 mL para o *B. subtilis*, sendo acondicionadas duas sementes por copo. Foram coletados os dados de emergência até o 15º dia, em que as plantas foram colhidas e avaliadas. Em seguida, as plântulas foram conduzidas para secagem em ar livre. As análises realizadas foram porcentagem de germinação, tempo médio de germinação, massa fresca e seca das plântulas, massa fresca e seca da raiz, comprimento de raiz e planta, diâmetro do caule e altura de inserção da primeira folha. A inoculação de bactérias não apresentou diferença estatística da testemunha para as variáveis comprimento radicular, diâmetro de caule e altura de inserção da primeira folha, bem como o tempo médio de germinação. A co-inoculação com *B. subtilis* e *A. brasilense* promoveu maior crescimento aéreo e maiores teores de massa seca e fresca para raiz e parte aérea. Em relação à taxa de germinação, o tratamento com *B. subtilis* isolado apresentou a maior taxa.

Palavras-chave: *Bacillus subtilis*; *Azospirillum brasilense*; *Zea mays*.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma Poácea de alta produtividade pertencente ao gênero *Zea*, anual e monocotiledônea, que possui capacidade de armazenar grandes quantidades de energia, tem caráter monóico, é alógama, podendo ter fecundação cruzada ou ao acaso. Tem grande valor econômico caracterizado pelas diversas formas de utilização e está presente em todas as regiões brasileiras (DEMÉTRIO et al., 2008; MAGALHÃES et al., 2002). Após o trigo e o arroz, o milho é o cereal mais cultivado no mundo (FAO, 2018).

Segundo CONAB (2020), a área plantada em ha de milho grão segunda safra no Brasil em 2020 foi de 13.757,3 mil ha, gerando uma produtividade de 75.054,5 mil t, o que corresponde a um acréscimo de 2,6% da produtividade obtida no ano de 2019. Na safra 2018/2019 o Brasil faturou cerca de R\$ 28,7 bilhões exclusivamente em comércio externo do grão de milho, movimentando em mercado interno outros bilhões de reais (FIESP, 2019). O milho é considerado um alimento energético para a dieta humana e animal, devido à sua composição predominantemente de carboidratos (amido) e lipídeos (PAES, 2006).

A agricultura no Brasil importa a maioria dos fertilizantes químicos utilizados nos cultivos, em virtude do alto grau de importação, a demanda por fertilizantes apresenta um impacto considerável sobre a balança comercial brasileira (DIAS; FERNANDES, 2006). Uma nova linha de pesquisa tem surgido como alternativa viável a esse problema, o uso de promotores de crescimento, que permitem otimizar a eficiência de uso desses insumos através do aumento do sistema radicular, auxiliando na absorção de nutrientes e fixação biológica, desde que a associação entre a bactéria e a planta seja eficiente (REIS, 2007).

Galeano et al. (2019) trabalhando a inoculação com a bactéria *Azospirillum brasilense*, notou que a mesma proporcionou maior teor de massa seca da parte aérea e de raízes, resultados da quantificação de proteína mostraram que sementes inoculadas com a bactéria possuem maiores concentrações de proteínas totais. Rocha et al. (2019) testou o uso de *A. brasilense* sem uso de cobertura nitrogenada no milho em testes realizados em Bom Progresso – RS, e obteve produtividades semelhantes a encontrada no tratamento com adubação convencional recomendada, indicando a eficiência do mesmo em suprir as necessidades de N da planta.

Plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentaram capacidade diferenciada de transporte de elétrons e eficiência de assimilação líquida de CO₂, em relação ao controle, em todos os estádios analisados, além de influenciarem positivamente em parâmetros fisiológicos,

morfométricos e nutricionais do desenvolvimento do milho, contudo, não influenciaram na produtividade final em trabalho desenvolvido por Brito (2019).

Ferreira (2018) concluiu que com uma dose $10,0 \text{ ml kg semente}^{-1}$ de *Bacillus* spp. obteve-se maior diâmetro de espiga e uma maior produtividade, evidenciando que o produto nessa dosagem pode incrementar a produtividade da cultura. Os resultados referentes à matéria seca da parte aérea, matéria seca da raiz e massa seca total para a cultura do milho com inoculação de *Bacillus subtilis* foram superiores a testemunha em experimento conduzido em casa de vegetação por Chagas et al. (2017).

Balbinot (2018) utilizou isolados do gênero *Bacillus* spp. em inoculação nas sementes do milho. Para altura de planta e diâmetro de colmo constatou que o isolado EB16 se assemelhou à dose de 100% de nitrogênio; o isolado EB02 e EB16 obtiveram as melhores respostas para diâmetro de espiga e produtividade, sendo tão eficiente quanto à dose de 50% de nitrogênio, indicando sua capacidade de promoção de crescimento.

Dada a importância econômica do milho e a intensa busca pelo seu aumento de produtividade, sem aumentos elevados nos custos de produção, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito das bactérias promotoras de crescimento sobre o desenvolvimento inicial do milho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

O milho é uma cultura presente em todas as regiões brasileiras e em todos os tipos de propriedade, sendo bastante cultivado na pequena propriedade (SILVA; SOUZA, 2007). De acordo com o Censo Agropecuário Familiar de 2006 o mesmo representa uma importante cultura para agricultura familiar, da produção brasileira deste cereal no Brasil 48% tem como origem estabelecimentos de agricultura familiar, assim classificado segundo aos critérios estabelecidos na Lei 11.326/2006 (IBGE, 2006).

Nos últimos 70 anos o Brasil obteve posição de destaque com significativo avanço tecnológico na produção de cultivares de milho, como exemplo, na safra 2010/2011 esteve a disposição dos produtores de milho cerca de 400 cultivares indicadas para as mais diversas regiões do país. O aumento da produtividade em áreas já tradicionalmente produtoras do grão, vem como fruto de um intenso trabalho de pesquisa e investimento em tecnologia na cultura, e um dos maiores desafios é a adaptação das cultivares ao ambiente, de forma que possam expressar todo o potencial produtivo (CRUZ, 2013).

O Brasil exportou na safra 2018/2019 41 milhões t de milho, em uma média de R\$ 42,00 a saca de 60 kg, faturando cerca de R\$ 28,7 bilhões em comercio externo (FIESP, 2019). As áreas de produção de milho segunda safra no país aumentaram em 1,1 milhão ha na safra 2018/2019, resultando em uma produtividade no Brasil de 73,8 milhões t de grãos, um crescimento de 36,9% em comparação a safra anterior. Este crescimento foi favorecido pelas condições ambientais favoráveis presentes, que possibilitaram o adiantamento do plantio da soja e conseqüentemente do milho, entre eles o início do ciclo de chuvas antes do normal para a época (CONAB, 2019).

Em função do potencial produtivo, composição química e valor nutritivo, o milho é um dos mais importantes cereais cultivados e consumidos no mundo. Devido a sua multiplicidade de aplicações, na alimentação humana ou na alimentação animal, assume relevante papel socioeconômico, além de se caracterizar como indispensável matéria-prima de diversificados complexos agroindustriais (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

O crescimento e a produtividade do milho decorrem de muitos fatores, mas são resultados do potencial genético do mesmo em reagir às condições ambientais as quais está submetido e, por isso, conhecer as necessidades fisiológicas e as características morfológicas do mesmo é fundamental (RITCHIE et al., 2003).

2.2. ORIGEM, MORFOLOGIA E FISIOLOGIA DO MILHO

O milho pertencente ao gênero *Zea*, espécie *Zea mays* L, família Poaceae, é uma planta produtora de grãos com ciclo anual e porte ereto, classificada como monocotiledônea (MAGALHÃES; SOUZA, 2015). Segundo Doebley (1990) o gênero *Zea* é constituído por um grupo de monocotiledôneas, algumas perenes e outras anuais, nativas da América Central e do México, sem localidade exata definida.

Sua raiz é classificada como fasciculada, e possui característica de superficialidade, a maior concentração se encontra 30 cm abaixo da superfície, as folhas são alternadas, opostas e paralelinérveas, e o caule é denso, apresentando função de sustentação, transporte de nutriente e armazenamento. Classificado como uma espécie monoica e alógama, sua inflorescência se divide em parte feminina (espiga) e parte masculina (pendão) que amadurecem em tempos diferentes por meio de um processo chamado protandria (MAGALHÃES et al., 1994).

Os estádios fenológicos da planta de milho, conforme seu desenvolvimento, são divididos em vegetativo e reprodutivo. Em relação ao estágio vegetativo, o desenvolvimento é acompanhado através da contagem de folhas, sendo V1 para uma folha plenamente expandida e assim consequentemente até Vn, onde n é a última folha plenamente expandida. O fim da fase vegetativa ocorre com Vt, onde t é a emissão do pendão. A fase reprodutiva é representada pela letra R, onde R1 representa o embonecamento e segue até R6, maturidade fisiológica do grão (MAGALHÃES; DURÕES, 2006).

Planta C4 que não atinge saturação luminosa, o milho garante maior eficiência na absorção de radiação solar e produção de fotoassimilados para transformação em carboidratos, quando comparado a plantas C3 (BLACKMAN; BLACK citado por CUNHA NETO, 2017). Usualmente as cultivares deste cereal são classificadas quanto à duração do seu ciclo produtivo em super-precoce, precoce e tardios, essa classificação foi definida com base na exigência térmica para que a planta complete seu ciclo (SANGOI et al., 2002).

De acordo com Fancelli e Dourado Neto (2000), a exigência em unidades térmicas é de 780 a 830 UC (Unidades Graus Dias) para cultivares super-precoce, 831 a 890 UC para cultivares precoce e, 891 a 1200 UC para cultivares com ciclos tardios. Conforme o mesmo estudo, o milho tem variações de exigências nutricionais e hídricas que dependem do estágio fenológico da planta; a espécie *Zea mays* L possui uma demanda hídrica entre 450 a 600 mm de água ha⁻¹ durante todo o ciclo da cultura para um pleno desenvolvimento, as fases que mais necessitam de umidade para perfeito desempenho são a germinação, florescimento e

enchimento de grãos, déficit nessas épocas podem causar diminuição de estande e produtividade.

Malavolta et al. (2002) e Borges (2006) observaram os seguintes valores de macronutrientes exportados para os grãos de milhos: 22,3 a 27,7 kg de nitrogênio (N); 21,3 a 23,2 kg de potássio (K), e 5,3 a 5,8 kg de fósforo (P), para a produção de 1,0 t de grãos. Sendo assim, o N representa o nutriente mais exigido pela cultura do milho. No estágio V3, onde a planta determina seu potencial produtivo, com a definição de quantas fileiras e grãos terão à espiga, a deficiência de N e P pode ocasionar perdas irreparáveis na produtividade da cultura (MAGALHÃES; DURÕES, 2006).

O N é o nutriente de manejo e recomendação mais complexos, em virtude da multiplicidade de reações químicas e biológicas a que está sujeito e de sua grande dependência das condições edafoclimáticas para absorção pela planta (CANTARELLA; DUARTE, citado por MOTA et. al., 2015). Apenas uma parte do N mineral aplicado é absorvido pelas plantas, o restante é perdido no sistema solo-planta-atmosfera por processos de lixiviação, volatilização, erosão e desnitrificação, tendo ainda uma fração que permanece no solo na forma orgânica (VARGAS, 2010).

Assim, uma das principais ferramentas no manejo da lavoura para obter altas produtividades é o uso assertivo de materiais com compostos nitrogenados ou que facilitem a absorção dos mesmos, sendo fundamental a utilização de técnicas que proporcionem economia, sem perda de produtividade agrícola, incentivando o cultivo que é de grande importância no país para pequenos e grandes produtores (MOTA et al., 2015). Embora fundamentais à produtividade, os fertilizantes químicos apresentam valor elevado dentro do custo de produção, sendo a maioria importados e de baixa eficiência de utilização pelas plantas (SOUSA et al., 2016).

A substituição de pelo menos parte destes insumos químicos consumidos na produção agrícola por nutrientes supridos via fontes biológicas, torna-se altamente desejável dentro dos preceitos de uma agricultura sustentável nas dimensões econômica, social e ecológica, que minimizem a dependência dos insumos importados. Neste cenário, microrganismos promotores do crescimento de plantas são indispensáveis para o planejamento de sistemas de manejo que visem à otimização da produtividade agrícola (SOUSA et al., 2016).

2.3. O USO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO

Os bioestimulantes são concebidos pela junção de diversas substâncias e/ou microrganismos, que podem ser aplicados nas plantas ou na rizosfera para estimular os processos naturais de crescimento e desenvolvimento ou, aumentar a aquisição de nutrientes, tolerância a estresses abióticos ou a produtividade das plantas (CALVO et al., 2014).

Devem ser considerados os benefícios dos mesmos por menor poluição ambiental que resulta da produção e utilização de fertilizantes nitrogenados, bem como pela redução na emissão de gases de efeito estufa. Desse modo, além da economia para os agricultores, o uso de inoculantes contribui para o ambiente e pode ser objeto de negociações futuras no comércio de créditos de carbono (CORREA et al., citado por CUNHA et al., 2014).

Existe uma ampla gama de bactérias que operam na promoção de crescimento, de maneira direta ou indireta. As bactérias promotoras do crescimento em plantas (BPCP) podem ser classificadas como rizosféricas, endofíticas ou de vida livre e, apesar dos diferentes nichos ecológicos, podem utilizar os mesmos mecanismos para promover o crescimento das plantas, as mesmas são encontradas na rizosfera, nos tecidos das plantas ou no solo (LOBO, 2018).

As BPCP atuam no desenvolvimento e crescimento da planta de várias maneiras, sendo as mais relevantes são fixação biológica de nutrientes; produção ou degradação de hormônios (citocininas, giberilinas, auxinas e etileno); solubilização do fosfato, além de atuarem como agente biológico controlador de patógenos e pragas. Acredita-se que a promoção de crescimento é resultado de todos esses recursos trabalhando agrupados alterando a arquitetura radicular e foliar (HUNGRIA, 2011).

Entre os gêneros existentes, alguns se destacam por ter uma grande importância na escala de produção de grãos, como por exemplo, várias espécies de *Azospirillum*, que produzem diferentes giberelinas e auxinas que são responsáveis pelo aumento do crescimento vegetal após a inoculação e, diversas bactérias do gênero *Acetobacter diazotrophicus*, e *Bacillus spp.* que produzem substâncias do tipo giberelina (GUTIERREZ-MAÑERO et al. citado por SOUSA et al., 2016). Em resumo, as bactérias estão sempre associadas com agricultura atuando não somente na promoção de crescimento e fixação de N atmosférico como também no biocontrole de doenças em milho (MARIANO et al., 2013).

2.3.1. *Azospirillum* spp.

Hall; Krieg (1984) descreveram as bactérias do gênero *Azospirillum* como gram-negativas, aeróbicas, no formato de bastonetes uniflagelados, com movimento de característica vibratória e padrão flagelar misto. Essas bactérias quebram a tripla ligação que existe entre os dois átomos de N, transformando-o em amônia, forma utilizável de nitrogênio (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Atualmente, vinte espécies já foram descritas, entre as quais *A. brasilense* é uma das mais estudadas, detendo um grande número de pesquisas desenvolvidas com milho (FUKAMI et al., 2018). O *A. brasilense*, tem a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e produzir hormônios vegetais, sendo bactérias endofítica facultativa, colonizando tanto o interior quanto à superfície das raízes (NOVAKOWISKI et al., 2011).

Segundo Dartora et al. (2013), quando em quantidades necessárias associados com as plantas, o *A. brasilense* estimula o crescimento radicular, assim como a densidade e o surgimento de raízes laterais, aumentando a área de absorção de nutrientes e água, e a permeabilidade da raiz. O mesmo eleva a resistência a condições adversas e atua na produção de hormônios de plantas, como a auxina, giberelina e citocinina, aumentando a biomassa da parte aérea e da raiz, assim como a área de substrato para microrganismos simbióticos benéficos (PERES, 2014).

Apesar das diferentes condições experimentais, diversos trabalhos relatam incrementos de produtividade de grãos de milho sob inoculação de *A. brasilense* (GALINDO et al., 2019; CAPRIO, 2017; OLIVEIRA et al., 2017; MÜLLER et al. 2016). Araújo et al. (2014b) montaram um experimento no Estado do Piauí, e relataram que o número de espigas foi maior com o uso de inoculante e a aplicação de 150 kg ha⁻¹ de N. Hungria et al. (2010) realizaram trabalhos em duas localidades no Estado do Paraná, um em Londrina e outra em Ponta Grossa, e registraram que o aumento na produção de grãos variou entre 443-823 kg ha⁻¹ com o uso de *A. brasilense*, em comparação com o tratamento não-inoculado.

Existem divergências entre os resultados da proposta de combinação de inoculação de *A. brasilense* com aplicação de N. Para Coelho et al. (2017), não dá para assegurar bons resultados da inoculação de *A. brasilense* com total remoção da adubação nitrogenada. Resultados positivos para os componentes de produção foram observados ao combinar doses parciais de N com o inoculante (GARCIA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017). Já Zeffa et al. (2018), relatam não só a falta de benefícios ao conciliar as práticas de inoculação e aplicação

de fertilizante nitrogenado, como também a influência negativa deste no desempenho das bactérias.

Um trabalho a campo na Estação Experimental da EPAGRI de Campos Novos, realizado por Parizotto; Pandolfo (2013) demonstrou não haver diferença significativa entre os tratamentos inoculados e a testemunha no rendimento e no peso de mil grãos da cultura do milho. Silva (2013) observou que a inoculação a base de *A. brasilense* associada a aplicação de nitrogênio mineral não propiciaram incrementos nos rendimentos de grãos, em um trabalho a campo no município de Lages - SC.

Essa inconsistência dos resultados é uma das principais limitações à utilização do *Azospirillum* na cultura do milho, e surge devido a variação na metodologia de condução dos ensaios e à complexidade da associação, a qual depende de fatores como material genético das plantas, interação com a bactéria, condições edafoclimáticas e a combinação de demais técnicas de manejo em campo. Diante destas variáveis, a performance das plantas pode ser bastante afetada (REVOLTI et al., 2018; BARTCHECHEN et al., 2010).

2.3.2. *Bacillus* spp.

As bactérias desse gênero são variáveis quanto ao tamanho e formas, entretanto as principais características são a estrutura em bacilos gram-positivos, aos pares ou em cadeias com extremidades arredondadas ou ângulos retos, que formam endósporos e portanto são mais resistentes aos fatores adversos (MELLO, 1998); sua notoriedade se dá pela tolerância a baixas temperaturas, sua habilidade de conservar-se no solo por longos períodos até ocorrer condições ambientais favoráveis para sua germinação e perdurar em condições adversas de pH (KLOEPPER, citado por BALBINOT, 2018).

Um dos gêneros mais diversos pertencente à microbiota do solo, o *Bacillus* possui capacidade de interagir com diferentes plantas, podendo multiplicar-se em diferentes rizosferas por se alojar no filoplano, rizoplano e tecidos internos (SILVA et al., 2008). O desenvolvimento de plantas mediado por *Bacillus* é realizada por meio de vários mecanismos, como a produção de fitohormônios estimuladores do crescimento, a inibição da síntese de etileno, a produção de sideróforos e antibióticos, a mobilização do fósforo, a indução de resistência das plantas, além da fixação biológica de nitrogênio (LIMA et al., 2011).

Por apresentar tantas características benéficas, o gênero *Bacillus* ostenta o maior número de produtos microbianos disponíveis para comercialização (BATISTA, 2017). A capacidade do gênero

Bacillus em promover o crescimento vegetal foi demonstrado em diversos trabalhos. Braga Junior (2015) verificou que isolados de *B. subtilis* foram capazes de propiciar o desenvolvimento de soja e feijão caupi, produzindo maiores valores de biomassa. Quando testados em plantas de alface, por Freitas et al. (2003), isolados de rizobactérias dos gêneros *Bacillus*, também demonstraram poder favorecer melhor desenvolvimento vegetal.

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, além de terem demonstrado ação contra nematoides (TSAVKELOVA et al., 2006; PERSELLO-CARTIEAUX et al., 2003). 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 (FERNANDES et al., 2014).

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). Houve aumento significativo para o acúmulo de N na parte aérea e na leitura de clorofila com a inoculação de *B. subtilis* em estudo desenvolvido por Lima et al (2011), as maiores produtividades de grãos foram encontradas com a utilização de doses iguais ou superiores a 120 kg ha⁻¹ de N com o uso da inoculação; a inoculação das sementes com *B. subtilis*, associada à adubação nitrogenada, melhorou o desenvolvimento e aumentou a produtividade de grãos do milho.

Araújo (2008) observou que a inoculação de *B. subtilis* em milho aumentou o teor de N nas folhas em aproximadamente 150% quando comparado com a testemunha, segundo o mesmo autor, o incremento no acúmulo de N no tecido foliar demonstra que existe alguma influência microbiana na disponibilização deste nutriente para a planta. O uso de *B. subtilis* apresentou resultados significativos no acúmulo de biomassa na cultura do milho, em estágio inicial de crescimento vegetal, segundo experimento em casa de vegetação realizado por Braga Junior (2015). O uso desse microrganismo no cultivo do milho ainda perpassa pela avaliação mais profunda de fatores que podem interferir em sua completa desenvoltura, para que os produtores tenham maior segurança de investir nessa tecnologia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no município de Anápolis, entre as coordenadas geográficas, Latitude 16°20'47.25"S e Longitude 48°56'35.05"O, com altitude 1.062 m. O clima da região é classificado de acordo com Köppen, como Aw (tropical com estação seca) com mínima de 18 °C e máxima de 32 °C, com chuvas de outubro a abril, precipitação pluviométrica média anual de 1.450 mm e temperatura média anual de 22 °C. O solo utilizado é classificado como Latossolo Vermelho distrófico, com textura média (30% argila).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, sendo quatro blocos constituídos de quatro tratamentos e 10 repetições, todos com a variedade de milho híbrido KWS 8774 PRO3. Os tratamentos foram assim delimitados: T1 – inoculação com *A. brasilense*; T2 - inoculação com *B. subtilis*; T3 - inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis*; e T4 – testemunha (sem inoculação). Durante a realização do trabalho, as unidades experimentais foram constituídas de copos plásticos de 400 ml (Figura 1).

O solo da camada superficial (primeiros 10 cm de profundidade) passou por peneiração para o uso. Para o preenchimento dos copos utilizou-se mistura de duas partes de solo e uma parte de areia, posteriormente foi realizada a adubação equivalente a 40 Kg ha⁻¹ de N, 100 Kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 60 Kg ha⁻¹ de K₂O. A inoculação das sementes ocorreu cerca de 30 minutos antes da semeadura, sendo utilizado 1,0 ml de inoculante para 1.000 sementes para o *A. brasilense* e 2 ml inoculante para 1.000 sementes para o *B. subtilis*, conforme adaptação da recomendação por ha.

As sementes tratadas ficaram acondicionadas em sacos plásticos vedados para não ocorrer contaminação com microrganismos presente na atmosfera. Os inoculantes aplicados foram NodusGreenAZ® com *A. brasilense* estirpe AbV5 e AbV6 e o Biobaci Premium®, composto de *B. subtilis* BV-09.

Realizou-se a semeadura a 2,0 cm de profundidade, sendo acondicionadas duas sementes por copo totalizando 20 sementes por parcela. Após a semeadura aplicou-se irrigação, a qual se procedeu diariamente, mantendo na condição de campo a umidade das parcelas experimentais.

Coletou-se os dados de emergência até o 15º dia (Figura 1), em que as plantas foram coletas e lavadas em água corrente para a realização das demais análises. Efetivou-se as avaliações biométricas das plântulas sendo comprimento de raiz e plântula (cm) com o auxílio de uma régua, diâmetro do caule (mm) com o uso do paquímetro e altura de inserção da 1º folha

(cm) a partir de régua. Com os dados de emergência realizou-se o cálculo da porcentagem de germinação pela fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), e o tempo médio de germinação. Com auxílio de balança aferiu-se a massa fresca da parte aérea e raiz (g), em seguida, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e conduzidas para secagem em ar livre, sendo determinada a massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) em gramas.

Os dados coletados foram tabulados e submetidos à análise de variância ANOVA e a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade realizada com o uso do software SISVAR® (FERREIRA, 2014).



FIGURA 1 – Detalhe das unidades experimentais e visão panorâmica do experimento de inoculação de bactérias promotoras de crescimento em sementes de milho, Anápolis, GO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para variável comprimento de parte aérea, o tratamento com uso conjunto das bactérias *A. brasilense* e *B. subtilis* apresentou o melhor desempenho, indicando o potencial da combinação em promover o crescimento. Os tratamentos com uso isolado de *A. brasilens* e *B. subtilis*, não apresentaram diferença estatística para a combinação das duas bactérias e para a testemunha, sendo este o menor desempenho observado (Tabela 1).

TABELA 1 – Comprimento de parte aérea e radicular, diâmetro do caule e altura de inserção da primeira folha em plântulas de milho, Anápolis, GO.

Bactérias	Comprimento (cm)		Diâmetro de Caule (mm)	Altura da 1º Folha (cm)
	Parte Aérea	Raiz		
<i>Azospirillum brasilense</i>	8,7440 ab*	12,2880 a	4,052 a	2,0810 a
<i>Bacillus subtilis</i>	10,1402 ab	14,2712 a	4,432 a	2,2725 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	11,0710 a	15,3237 a	4,667 a	2,3350 a
Testemunha	7,5442 b	11,7277 a	3,916 a	2,0725 a

*Letras iguais na coluna não apresentam diferença significância no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O maior valor apresentado pela co-inoculação tem correlação com a concentração de hormônios vegetais, que é favorecida com a presença das bactérias e tem a função de acelerar o desenvolvimento dos tecidos, como descrito em trabalho conduzido por Tien et al. citado por Kleinschmitt (2018) que encontraram o ácido indol-acético, giberelinas e citocininas como resultado da presença de bactérias via inoculação. Avaliando o crescimento de parte aérea do milho com inoculação de BPCP, Muzzuchelli et al. (2014) também encontrou diferença significativa para tratamento composto pela co-inoculação de *A. brasilense* e *B. subtilis* em relação aos demais que não diferiram entre si. No mesmo trabalho ainda é relatado o efeito positivo da inoculação isolada de *A. brasilense* na produtividade do milho, aumentando 21% em relação ao controle sem inoculação.

Resultado semelhante foi observado por Buchelt et al. (2019), que ao inocular sementes de milho com os bioestimulantes ProGibb 400®, Stimulate® e com a bactéria *B. subtilis* em diferentes dosagens encontrou diferença para crescimento aéreo entre o tratamento inoculado com o produto comercial ProGibb 400® e os demais, aumentando o crescimento da plântula e massa seca no início do desenvolvimento.

A análise biométrica para comprimento de raiz demonstrou que a inoculação com bactérias isoladas ou em conjunto não apresenta diferença em comparação à testemunha sem

inoculação (Tabela 1), assim como para diâmetro do caule. A inexistência de efeito da inoculação no desenvolvimento do milho também é relatada por Lima (2018), que testando o rendimento da cultura do milho em resposta a inoculação com *A. brasilense* associado a diferentes plantas de cobertura e doses de N, aferiu que a inoculação não apresentou benefícios ao desenvolvimento, corroborando com os resultados encontrados no presente experimento.

De acordo com Martins et al. (2016), apesar da ativação de rotas metabólicas do processo de divisão celular, o aumento no volume e diferenciação celular para a cultura do milho promovidos pelos inoculantes, não foi possível identificar diferença entre os tratamentos para diâmetro do caule, em experimento com o inoculante comercial Feriactyl®. Já o experimento desenvolvido por Dartora et al. (2013b) evidenciou efeito na inoculação por *A. brasilense* sobre o diâmetro basal do colmo do milho nas fases vegetativa e reprodutiva, proporcionando maior diâmetro basal para combinação de estirpes de *A. brasilense* em relação à testemunha de 15% na fase vegetativa.

Quanto à altura de inserção da primeira folha não houve efeito da inoculação, em geral esta é uma característica ligada ao híbrido selecionado para o plantio e, não aos manejos empregados, sendo portanto, esperado não haver diferença com a inoculação para esta variável.

O tempo médio de germinação em dias não apresentou diferença com a presença das bactérias conforme elucidado na Tabela 2. O tempo demandado pelas sementes foi considerado alto para o híbrido utilizado, fator que pode estar relacionado as condições climáticas encontradas na época de plantio (início do mês de agosto de 2020), cujo as médias de temperatura foram baixas para normal da região Centro Oeste (Figura 2). Baixas temperaturas no plantio, geralmente, restringem absorção de nutrientes do solo e causam lentidão no crescimento da plântula (SANGOI et al. citado por MAGALHAES; SOUZA, 2015), o que vai de acordo com os resultados não significativos encontrados para crescimento de raiz e diâmetro do caule.

TABELA 2 – Tempo médio de germinação e porcentagem de germinação de sementes de milho sobre ausência e presença de diferentes bactérias, Anápolis, GO

Bactérias	Tempo Médio de Germinação (dias)	Germinação %
<i>Azospirillum brasilense</i>	9,6500 a*	70,0000 c
<i>Bacillus subtilis</i>	8,9250 a	73,7500 a
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	8,6750 a	68,7500 d
Testemunha	9,3000 a	72,5000 b

*Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença 5% de significância no teste de Tukey.



Fonte: AccuWeather (2020).

FIGURA 2 – Temperaturas diárias, máximas e mínimas, no mês de agosto de 2020 em Anápolis – GO

O *B. subtilis* inoculado isoladamente apresentou o melhor percentual da germinação de sementes em comparação aos demais tratamentos. Os tratamentos com a presença de *A. brasilense* obtiveram desempenho abaixo do observado pela testemunha, indicando um possível efeito ocasionado pela temperatura da época na germinação de sementes. De acordo com Eckert et al. (2001), dependendo da espécie, a temperatura ótima de crescimento pode variar de 28 a 41°C, para estirpes de *A. brasilense*, sendo assim, as condições de temperatura no início da instalação do experimento com médias abaixo de 28°C podem ter inativado o efeito da bactéria sobre as sementes. Em contra partida ao testar combinações de doses de N com bactérias diazotróficas, o trabalho efetuado por Araujo et al. (2014a), contestou a influência sob a germinação e não encontraram diferença entre o controle e os demais tratamentos.

Em relação ao acúmulo de matéria fresca e seca da parte aérea e raiz (Tabela 3), o tratamento com a co-inoculação das bactérias *A. brasilense* e *B. subtilis* apresentou os maiores valores para média (g), seguido pelo tratamento com *B. subtilis*. O acúmulo de biomassa sob efeito de inoculação de *B. subtilis*, composto por três cepas (UFTBs 01, UFTBs 02, UFTBs 03) em milho, foi maior quando comparado a testemunha em trabalho desenvolvido em casa de vegetação por Braga Junior (2015), em estágio inicial de crescimento.

TABELA 3 – Massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca radicular (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca radicular (MSR) em gramas para plântulas de milho, Anápolis – GO

Tratamentos	MFPA	MFR	MSPA	MSR
<i>Azospirillum brasilense</i>	13,3471 c	54,1758 c	4,9720 c	15,9120 c
<i>Bacillus subtilis</i>	18,5810 b	57,6912 b	6,1123 b	16,4580 b
<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i>	20,1112 a	61,8109 a	6,7721 a	16,9840 a
Testemunha	10,1856 d	50,1237 d	4,1230 d	14,5380 d

*Letras minúsculas iguais na coluna não apresentam diferença 5% de significância no teste de Tukey.

Galeano et al. (2019) observou massa seca da parte aérea e de raízes maior com inoculação da estirpe de *A. brasilense* MAY12 e inoculante comercial, em experimento realizado em laboratório, corroborando com os resultados encontrados no presente trabalho. Carvalho et al. (2019) em trabalho desenvolvido em laboratório, testou o desenvolvimento das plântulas de milho inoculadas com duas cepas de *B. subtilis* sobre estresse hídrico induzido por polietilenoglicol, e observou que o ambas as cepas produziram aumento de matéria seca de raiz em comparação a testemunha, assim como aumento no volume de raízes mais grossas.

O experimento desenvolvido, demonstra a habilidade promissora das bactérias promotoras de crescimento *B. subtilis* e *A. brasilense*. Há necessidade de novas pesquisas para aprimorar o processo de inoculação e compatibilidade entre diferentes cultivares com as bactérias em questão, visando a permanência dos mecanismos bacterianos de promoção do crescimento de plantas à nível de campo, que não foram aferidos nesse trabalho. Ademais, é necessário um estudo mais aprofundado sobre as possíveis interferências das condições climáticas sobre os efeitos das BPCP.

5. CONCLUSÃO

A inoculação com bactérias promotoras de crescimento das espécies *A. brasilense* e *B. subtilis*, isoladas ou em conjunto, não influenciaram o comprimento radicular, diâmetro de caule e altura de inserção da primeira folha, bem como o tempo médio de germinação. A co-inoculação com *A. brasilense* e *B. subtilis* promoveu maior crescimento aéreo das plântulas germinadas, maior teor de massa seca e fresca para raiz e parte aérea. O tratamento com *B. subtilis* isolado apresentou maior porcentagem de germinação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, E. D. O.; VITORINO, A. C. T., MERCANTE, F. M., NUNES, D. P., SCALON, S. P. Q. Qualidade de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com bactérias diazotróficas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. V. 9, n. 2, p.159-165, 2014a.
- ARAÚJO, F.F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, v.2, n.2, p.456-462, 2008.
- ARAÚJO, R. M.; ARAÚJO, A. S. F. D.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. D. V. B. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p.1556-1560, 2014b.
- BALBINOT, W. G. **Inoculação de *Bacillus sp.* na cultura do milho (*Zea mays L.*) como promotor de crescimento**. 2018. 48 p. Monografia (Especialização em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Curitibanos, 2018.
- BARTCHECHEN A.; FIORI C. C. L.; WATANABE, S. H.; GUARIDO R.C. Efeito da inoculação de *Azospirillum brasilense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays L.*). **Campo Digital**, v 5, p. 56-59. 2010.
- BATISTA, B.D. **Promoção de crescimento vegetal por *Bacillus sp.* RZ2MS9: dos genes ao campo**. 2017. 107 p. Tese (Doutorado em ‘Genética e Melhoramento de Plantas’) USP – Escola Superior de Agricultura – Luiz Queiroz. 2017.
- BORGES, I. D. **Marcha de absorção de nutrientes e acúmulo de matéria em cultivares de milho**. 2006. 115 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Programa de pós-graduação, UFLA, Lavras, 2006.
- BRAGA JUNIOR, G. M. **Eficiência de *Bacillus subtilis* no biocontrole de fitopatógenos e promotor de crescimento vegetal**. 84 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Curso de pós-graduação em Produção Vegetal. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi – TO, 2015.
- BRASIL – Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de semente**. Brasília – DF, 365 p, 1992.
- BRITO, T. S. **Métodos de inoculação de *Azospirillum brasilense* e a sua influência na promoção de crescimento do milho**. 2019. 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2019.
- BUHELDT, A.C.; METZLER, C.R.; CASTIGLIONI, J.L.; DASSOLLER, T.F.; LUBIAN, M.S. Aplicação de bioestimulantes e *Bacillus subtilis* na germinação e desenvolvimento inicial da cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia – MS, v. 6, n. 4, p. 69-74, 2019.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 383, p. 3-41, 2014.

CARVALHO, C.G.; VELLOSO, C.C.V.; GODINHO, B.T.V.; PAIVA, C.A.O.; GOMES, E.A.; MAGALHÃES, P.C.; LANA, U.G.P.; TINOCO, S.M.S. **Efeitos de bactérias promotoras de crescimento em plântulas de milho sob estresse hídrico induzido por polietilenoglicol 6000**. Embrapa Milho e Sorgo, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 196. Sete Lagoas, 30 p., 2019.

CHAGAS, L. F. B.; MARTINS, A. L.L.; CARVALHO FILHO, M. R. D.; MILLER, L. D.O.; OLIVEIRA, J. C. D.; CHAGAS JUNIOR, A. F. *Bacillus subtilis* e *Trichoderma sp.* no incremento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz. **Revista Agri-Environmental Sciences**, Palmas, v. 3, n. 2, p. 10-18, 2017.

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. **Scientia Agraria Paranaensis**, Paraná, v 16, n 2, :186-192. 2017.

CONAB - Companhia Nacional De Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2018/2019 - Décimo segundo levantamento**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília, v. 6, n. 12, p. 1-126, 2019.

CONAB - Companhia Nacional De Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2019/2020 – Décimo segundo levantamento**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Brasília, v. 7, n. 12, p. 1-68, 2020.

CRUZ, S. J. S. **Características morfofisiológicas de plantas e produtividade do milho**. 2013. 60 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

CUNHA NETO, V. F. **Desenvolvimento e produtividade de cultivares de milho (*Zea mays*) em ambiente de várzea e estufa de cultivo**. 2017. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém. 2017

CUNHA, F. N.; SILVA, N. F. D.; BASTOS, F. J. D. C.; CARVALHO, J. J. D.; MOURA, L. M. D. F.; TEIXEIRA, M. B.; ROCHA, A. C. D.; SOUCHIE, E. L. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 3, p. 261-272, 2014.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; JUNIOR, A. S. P.; CRUZ, L. M.; MENSCH, R. Influência do tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Scientia Agraria Paranaensis**, Paraná, v. 12, n. 3, p. 175-181, 2013a.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1023-1029, 2013b.

DEMÉTRIO, C. S.; FORNASIERI FILHO, D.; CAZETTA, J. O.; CAZETTA, D. A. Desempenho de híbridos de milho submetidos a diferentes espaçamentos e densidades populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1691-1697, 2008.

DIAS, V. P.; FERNANDES, E. Fertilizantes: uma visão global sintética. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 24, p. 97-138, 2006.

DOEBLEY, J. Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. **BioScience**, v. 40, n. 6, p. 443-448, 1990.

ECKERT, B.; WEBE, O.B.; KIRCHHOF, G.; HALBRITTER, A.; STOFFELS, M.; HARTMANN, A. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 17-26, 2001.

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

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **World food and agriculture – Statistical Pocketbook**. FAO Statistics, Rome, 254 p. 2018.

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, 2014.

FERREIRA, D. D. S. A. **Eficiência do *Bacillus amyloliquefaciens* na promoção de crescimento e produtividade no milho**. 2018. 35 p. Monografia (Especialização em Agronomia). Universidade Federal de Mato, Instituto de Ciência Agrárias e Ambientais, Sinop, 2018.

FIESP – Federação das Indústrias do Estado de São Paulo. **Preço das Principais Commodities do Agronegócio**. FIESP, São Paulo, Informativo de Outubro, 2019. Disponível em:<<https://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/precos-das-principais-commodities-do-agronegocio/>>. Acessado em: 24 de março de 2020.

FRANCIS, I.; HOLSTERS, M.; VEREECKE, D. The Gram-positive side of plant-microbe interactions. **Environmental Microbiology**, Londres, v. 12, n. 1, p.1-12, 2010.

FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; DONZELI, V. P. Promoção de crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Londrina, v. 27, p 61-70, 2003.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **AMB Express**, Londrina, v. 8, p. 1-12, 2018.

GALEANO, R. M. S.; CAMPELO, A. P. D. S.; MACKERT, A.; BRASIL, M. D. S. Desenvolvimento inicial e quantificação de proteínas do milho após inoculação com novas estirpes de *Azospirillum brasilense*. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 6, n. 2, p. 95-99, 2019.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; PAGLIARI, P. H.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J.; MEGDA, M. M.; NOGUEIRA, T. A. R., ANDREOTTI, M.; ARF, O. Maize Yield Response to Nitrogen Rates and Sources Associated with *Azospirillum brasilense*. **Agronomy Journal**, v. 3, n. 4p. 1985-1997, 2019.

GARCIA, M. M.; PEREIRA, L. C.; BRACCINI, A. L.; ANGELOTTI, P.; SUZUKAWA, A. K.; MARTELI, D. C. V.; FELBER, P. H.; BIANCHETTI, P. A.; DAMETTO, I. B. Effects of *Azospirillum brasilense* on growth and yield compounds of maize grown at nitrogen limiting conditions. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 40, n. 2, p. 353-362, 2017.

GUIMARÃES, A. M.; PAZ, I. C. P.; SANTIN, R. D. C. M.; PAULI, G.; SILVA, M. E.; SOUZA, R. V.; SOUZA, R. V.; MATSUMURA, A. T. S.; SILVA, E. R. 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.

HALL, P. G.; KRIEG, N. R. Application of the indirect immunoperoxidase stain technique to the flagella of *Azospirillum brasilense*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 47, n. 2, p. 433-435, 1984.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Embrapa Soja – Documentos, Londrina, n. 325, p. 1- 36, 2011.

HUNGRIA, M.; CAMPOS, 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**, Netherlands, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006 - Agricultura Familiar: Primeiros Resultados**. Rio de Janeiro, p. 1-267, 2006.

KLEINCHMITT, E. **Desenvolvimento e produtividade da cultura do milho (*Zea mays*) em resposta à inoculação de *Azospirillum brasilense* e ao uso de fertilizantes bioindutores**. 2018. 49 p. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciência Agrárias, Curitibanos, 2018.

LIMA, F. F.; NUNES, L. A. P. L., FIGUEIREDO, M. V. B.; ARAUJO, F. F.; LIMA, L. M.; ARAUJO, A. S. F. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Pernambuco, v. 6, n. 4, p 657-661, 2011.

LIMA, C.S. **Rendimento da cultura do milho em resposta à inoculação com *Azospirillum brasilense* associado às diferentes doses de nitrogênio e plantas de cobertura**. 2018. 42 p. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2018.

LOBO, L. L. B. **Potencial de bactérias endofíticas na promoção do crescimento em plantas de milho**. 2018. 55 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2018.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da Produção de Milho**. Embrapa Milho e Sorgo - Circular Técnica 76, Sete Lagoas, v. 1, p. 1 – 10, 2006.

MAGALHAES, P. C.; SOUZA, T. C. **Sistemas de Produção Embrapa: Cultivo do Milho – Ecofisiologia do milho**. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, v. 9, 2015. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_state=normal&p_p_lifecycle=0&p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao16_1galceportlet&p_r_p_76293187_sistemaProducaoId=7905&p_r_p_996514994_topicoId=8658&p_p_col_count=1&p_p_col_id=column-2&p_p_mode=view>. Acessado em: 24 de março de 2020.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. Embrapa Milho e Sorgo - Circular Técnica 22, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 1- 23, 2002.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Embrapa Milho e Sorgo - Circular Técnica 20, Sete Lagoas, v. 1, p. 1- 27, 1994.

MALAVOLTA, E.; PIMENTEL-GOMES, F.; ALCARDE, J. C. **Adubos & adubações**. São Paulo: Nobel, 2002. 200 p.

MARIANO, R. D. L. R., SILVEIRA, E. B. D.; ASSIS, S. M. P. D.; 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 uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 1, n. 1, p. 89-111, 2004.

MARTINS, A.G.; SEIDEL, E.P.; RAMPIM, L.; ROSSET, J.S.; PRIOR, M.; COPPO, J.C. Aplicação de bioestimulantes em sementes de milho cultivado em solos de diferentes texturas. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Ramos, v. 15, n. 4, p. 440-445, 2016.

MAZZUCHELLI, R.C.L.; SOSSAI, B.F.; ARAUJO, F.F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquim Agrariae**, v. 10, n. 2, p. 40-47, 2014.

MELO, I. S. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia microbiana** – Jaguariúna: Embrapa – CNPMA, 1998. 488p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora Ufla, p. 449-465, 2006. 729 p.

MOTA, M. R.; SANGOI, L.; SCHENATTO, D. E.; GIORDANI, W.; BONIATTI, C. M.; DALL'IGNA, L. Fontes estabilizadas de nitrogênio como alternativa para o aumentar o rendimento de grãos e a eficiência de uso do nitrogênio pelo milho. **Revista Brasileira Ciência do solo**, v. 39, n. 2, p. 512 – 522, 2015.

MÜLLER, T. M.; SANDINI, I. E.; RODRIGUES, J. D.; NOVAKOWISKI, J. H.; BASI, S.; KAMINSKI, T. H. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 2, p. 210-215, 2016.

- NOVAKOWISKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A. D.; NOVAKOWISKI, J. H.; CHENG, N. C. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho Residual. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n.1, p. 1687-1698, 2011.
- OLIVEIRA, A. L. M.; SANTOS, O. J. A. P.; MARCELINO, P. R. F.; MILANI, K. M. L.; ZULUAGA, M. Y. A.; ZUCARELI, C.; GONÇALVES, L. S. A. Maize inoculation with *Azospirillum brasilense* Ab-V5 cells enriched with exopolysaccharides and polyhydroxybutyrate results in high productivity under low N fertilizer input. **Frontiers in Microbiology**, V. 8, n. 1, p. 1-18, 2017.
- PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Embrapa Milho e Sorgo - Circular Técnica, 75, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2006.
- PARIZOTTO, C; PANDOLFO, C.M. Rendimento de milho no sistema agroecológico submetido à inoculação com *Azospirillum brasiliense* e uréia natural. **In: IX Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão**, Campos Novos, Resumos expandidos, 2013.
- PERES, A. R. **Co-inoculação de *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense* em feijoeiro cultivado sob duas lâminas de irrigação: produção e qualidade fisiológica de sementes**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia, Unesp, Ilha Solteira, 2014.
- PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. **Plant Cell and Environment**, v.26, n. 2, p.186–199, 2003.
- REIS, V. M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas**. Embrapa Agrobiologia – Documentos, Seropédica, n. 232, p. 1- 22, 2007.
- REVOLTI, L. T. M.; CAPRIO, C. H.; MINGOTTE, F. L. C.; MORO, G. V. *Azospirillum spp.* potential for maize growth and yield. **African Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 18, p. 574-585, 2018.
- RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. **Potafos - Informações Agronômicas**, n. 103, p. 1-20, 2003.
- ROCHA, M.; CARPES FILHO, L. E. N.; RAMIRES, M. F.; LANZANOVA, M. E.; BOHER, R. E. G.; SOUZA, E. L. D. Uso de inoculação com *Azospirillum brasilense* em cultivo de milho na região noroeste do rio grande do sul. **In IX SIEPEX-IX Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão**, Porto Alegre, 2019.
- SANGOI, L.; LECH, V. A.; RAMPAZZO, C.; GRACIETTI, L. C. Acúmulo de matéria seca em híbridos de milho sob diferentes relações entre fonte e dreno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 259–267, 2002.
- SILVA, D. A. D.; SOUZA, L. C. F. D. Análise econômica de sucessões de culturas para milho, com níveis de nitrogênio em cobertura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.6, n.2, p. 256-262, 2007.

SILVA, L. M. M. D. **Desempenho agrônômico de milho em função do tratamento de sementes com *Azospirillum brasiliense* sob diferentes doses de nitrogênio mineral**. 2013. 70 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Ciências AgroVeterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2013.

SOUSA, S. M. D.; OLIVEIRA, C. A. D.; GOMES, E. A.; LANA, U. G. D. P.; SANTOS, N. G.; OLIVEIRA, L. B.; BATISTA, F. D. C. Avaliação de plântulas de milho em solução nutritiva sob a ação de bioestimulantes à base de microrganismos. In: **CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO: inovações, mercados e segurança alimentar**, 31, 2016, Bento Gonçalves. Anais. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2016.

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, n. 2, p. 117–126, 2006.

VARGAS, V. P. **Manejo da adubação nitrogenada na recuperação de estresses em milho**. 2010. 145 p. Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2010.

ZEFFA, D. M.; FANTIN, L. H.; SANTOS, O. J. A. P. D.; OLIVEIRA, A. L. M. D.; CANTERI, M. G.; SCAPIM, C. A.; GONÇALVES, L. S. A. The influence of topdressing nitrogen on *Azospirillum spp.* inoculation in maize crops through meta-analysis. **Soil and Plant Nutrition – Bragantia**, Campinas, v. 77, n. 3, p. 493-500, 2018.