

JAÍZA ELLEN BORGES CORDEIRO

**DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO EM RESPOSTA À
INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE
PLANTAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

FLORESTAL
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Florestal

T

C794d
2017
Cordeiro, Jaíza Ellen Borges, 1990-
Desempenho agrônômico do milho em resposta à
inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas /
Jaíza Ellen Borges Cordeiro. – Florestal, MG, 2017.
xiii, 81f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Lílian Estrela Borges Baldotto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa -
Campus Florestal.

Inclui bibliografia.

1. Milho - Produtividade. 2. Milho - Inoculação.
3. Nitrogênio - Fixação biológica. 4. Biofertilizantes.
I. Universidade Federal de Viçosa - Campus Florestal.
Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-graduação
em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários.
II. Título.

CDD 22 ed. 633.15

JAÍZA ELLEN BORGES CORDEIRO

**DESEMPENHO AGRÔNOMICO DO MILHO EM RESPOSTA À
INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE
PLANTAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 7 de março 2017




Marihus Altoé Baldotto
(Coorientador)



Marcos Paiva del Giudice
(Coorientador)



Maurilo Batista do Carmo



Lilian Estrela Borges Baldotto
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço prioritariamente à divindade, leia-se Deus (por mim colocada como força soberana do universo), pela oportunidade de vir à essa dimensão e conseguir aprimorar o meu intelecto.

Agradeço também pela família, perpetuação hereditária, à qual estou inserida. Família essa, que apoia minhas decisões e torce comigo para a realização do sucesso em cada nova etapa.

À minha Mãe Celeste, Mãe, ah Mãe, a você faltam-me palavras para escrever sua importância, seu lugar cativo no pulsar da minha aorta. É notório, tenho muita admiração à sua dedicação para conosco (eu e Ná), a ideologia que trago comigo e o ser humano que sou hoje devo sem sombra de dúvidas a você. Descarrego então aqui o meu muitíssimo obrigada, vindo do fundo da alma e saindo em forma de som abstrato capaz de sacudir até mesmo um coração gelado.

À minha irmã Nathanaela, pela paciência nos momentos mais difíceis, momentos de estresse no final de um experimento e outro, em que eu não tinha forças nem para lhe ouvir.

Ao meu Pai, Jazi Cordeiro, pela compreensão da minha ausência, devido à necessidade de dedicar aos estudos, pelo convite para tomar aquela gelada quando eu chegava triste devido aos fungos que insistiam em contaminar as minhas delicadas bactérias.

Ao Bruno (Príncipe) que nunca vai deixar de ser um Príncipe pois incorporou esse papel e o fez da forma mais precisa do universo. Menino, foram quantos finais de semana no laboratório mesmo? Quantas noites mal dormidas, quantos dias acordando às 4:00, quantas horas sentados na cozinha escrevendo, e você lá, persistente, me apoiando, ajudando, auxiliando até mesmo quando já estava exausto de tudo. Sou muito grata ao seu companheirismo, entendi em prática o que é ser companheiro.

Ao Filipe (Nerd) pelo apoio incomensurável, resguardando as noites de balada ou de descanso para me auxiliar com a dissertação e sugerindo alterações mais que pertinentes. Xis, sou muito grata a você por estar ao meu lado sempre.

Agradeço a todos os meus familiares e amigos que mergulharam comigo nessa empreitada que foi o mestrado.

Às turmas do MCENA ingressantes em 2015 e 2016, reconheço cada perrengue juntos, noites viradas estudando estatística, lembram? Obrigada pela presença nesses momentos não muito agradáveis.

À minha amiga Cíntia Loos, frequentemente reconhecida como minha anja da guarda, sei que nosso elo é decorrente de outras vidas, somente a reencontrei. Amiga a sua presença em meus dias foi fundamental, obrigada por toda a sua dedicação a mim prestada.

À minha orientadora Lilian Baldotto, a qual muitas vezes me referi como Mãe, sua calma e tranquilidade foi o que mais nos sintonizou, contigo eu aprendi muito, sua sabedoria e sensatez sempre me surpreendeu e me fez enxergar as coisas com mais profundidade, obrigada por me tornar uma cientista melhor e mais humana. Obrigada pela confiança, por esses anos de orientação, crescimento e oportunidade, eles foram muito importantes na minha vida e me desculpe se às vezes deixei a desejar.

Agradeço à minha banca avaliadora, pela solicitude e sábio acompanhamento. Professor Marihus, agradeço em especial pelos conselhos mais que pertinentes.

À turma do Laboratório de Microbiologia, galera vocês tem um pedacinho desse meu título, Klever você foi muito importante nos ensinamentos das práticas com zelo e cautela. Debrinha, sem você minha rainha eu não teria conseguido fazer metade do que foi feito, você minha amiga confidente e colega de trabalho, você foi conselheira quando havia de ser, psicóloga quando necessitava e até estagiária, ah Debrinha sua ajuda foi mesmo muito efetiva. Sr. Tõe e Tim (timdoida), vocês dois eram meu acalento nos momentos em que o suor escorria por toda a face, nos momentos em que o trabalho havia de ser árduo e não havia mais força para tanto (quem já fez experimento de campo, sabe do que trato nessas linhas), vocês colocavam as palavras de forma tão adequada que me explodia uma gargalhada que sacudia todo o corpo e a energia se revigorava e dávamos sequência ao trabalho, o meu muito obrigada a vocês, meus sábios guerreiros. Agradeço a cada um de vocês que me auxiliaram tanto, Bruna Diniz, Raphaela, Marlene, Bruna Caloura, Rose (Pró reitora), Anna Elisa, Jéssica, Marina, Saulo, Gi, João, Hend, Karina (kaka), Paty (Chefa), Ricardo, Dionísio, João Branco, Larissa, Amandinha, Mairla e Gustavo sem vocês nitidamente nada seria possível.

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa e todos os integrantes e professores do programa de mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários por me conceder, como servidora, a oportunidade de concluir o mestrado que sempre foi um grande sonho.

Agradeço às infinitas forças do universo, por estarem entrelaçadas a mim e possibilitar-me grandes realizações. A tudo e a todos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Jaíza Ellen Borges Cordeiro, nascida em Contagem – MG, Brasil, em 01 de abril de 1990. Filha de Celeste Borges e Jazi Mendes Cordeiro. Em dezembro de 2007, concluiu o curso Técnico em Agropecuária, pela Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Florestal – MG e em dezembro de 2013, finalizou o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Florestal – MG. Em março de 2015, iniciou os estudos no curso de Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, na Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Florestal – MG.

SUMÁRIO

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	viii
LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. HIPÓTESES	4
3. OBJETIVOS	5
3.1. Objetivo geral	5
3.2. Objetivos específicos	5
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
4.1. A cultura do milho	6
4.2. Bactérias promotoras de crescimento em plantas	10
4.3. Fixação biológica de nitrogênio (FBN)	13
5. TRABALHOS	17
5.1. Crescimento do milho em resposta à inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas em viveiro.	17
5.1.1. Resumo	17
5.1.2. Abstract	19
5.1.3. Introdução	20
5.1.4. Metodologia	21
5.1.4.1. Área de Estudo	21
5.1.4.4. Preparo do solo utilizado	24
5.1.4.5. Cultivo das colônias dos isolados bacterianos	24
5.1.4.6. Obtenção do pré-inóculo e inóculo	25
5.1.4.7. Inoculação e implantação do experimento	26
5.1.4.8. Coleta dos dados e análise das variáveis	27
5.1.4.9. Análises Estatísticas	28
5.1.5. Resultados e Discussão	28
5.1.6. Conclusões	32
5.1.7. Bibliografia	33
5.2. Desempenho agrônômico do milho para produção de silagem e grãos em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas em campo.	37
5.2.1. Resumo	37
5.2.2. Abstract	39
5.2.3. Introdução	40
5.2.4. Metodologia	42
5.2.4.1. Área de Estudo	43
5.2.4.2. Delineamento experimental	43
5.2.4.2. Material vegetal	45
5.2.4.3. Preparo do solo utilizado	45
5.2.4.4. Cultivo das colônias dos isolados bacterianos	46

5.2.4.5. Obtenção do pré-inóculo e inóculo.....	46
5.2.4.6. Inoculação e implantação do experimento	47
5.2.4.7. Tratos culturais	47
5.2.4.8. Coleta dos dados e análise das variáveis	48
5.2.4.9. Análises Estatísticas	50
5.2.5. Resultados e discussão.....	50
5.2.5.1. Milho destinado à produção de silagem	51
5.2.5.2. Milho destinado à produção de grãos	53
5.2.6. Conclusões.....	59
5.2.7. Bibliografia.....	60
6. CONCLUSÃO GERAL.....	67
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
8. ANEXOS	78

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- ALT = altura da planta
- ALTE = altura de inserção da espiga
- BPCP = bactérias promotoras de crescimento de plantas
- CE = comprimento da espiga
- CN = conteúdo de nitrogênio
- CP = conteúdo de fósforo
- CV = coeficiente de variação
- FBN = fixação biológica de nitrogênio
- DC = diâmetro do colmo
- MFPA = matéria fresca da parte aérea;
- MFR = matéria fresca da raiz;
- MFT = matéria fresca total
- MSPA = matéria seca da parte aérea
- MSR = matéria seca da raiz
- MST = matéria seca total
- N = nitrogênio
- NE = número de espigas
- NF = número de folhas
- NP = número de plantas
- NTG = número total de grãos por espiga
- PB = conteúdo total de proteína bruta
- PRD = produtividade
- P(1000) = peso de mil grãos
- P(5) = peso dos grãos de 5 espigas
- QMR = quadrado médio do resíduo

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS

FIGURA 1 - Fases de desenvolvimento da cultura do milho.

FIGURA 2 - Viveiro do Setor de Floricultura da UFV-CAF.

FIGURA 3 - Cultivo das colônias dos isolados bacterianos.

FIGURA 4 - Bactérias em meio líquido DYGS por 24h, a 30°C e 120 rpm.

FIGURA 5 - Procedimento de inoculação das sementes de milho e disposição dos tratamentos no viveiro.

FIGURA 6 - Coleta do experimento em viveiro e análise das variáveis.

FIGURA 7 - Gráfico da precipitação pluviométrica acumulada e temperatura média mensal no período de dezembro/2015 a março/2016.

FIGURA 8 - Imagem de satélite do Setor de Horticultura da UFV-CAF.

FIGURA 9 - Desenho experimental do estudo em campo.

FIGURA 10 - Inoculação das sementes de milho com BPCP para instalação do experimento em campo.

FIGURA 11 - Milho destinado à produção de silagem e grãos.

FIGURA 12 - Comparação entre a testemunha (T1) e o tratamento com a bactéria UFV-1214 (T2) nos 5 blocos.

TABELA 1 - Descrição dos tratamentos do Experimento em viveiro.

TABELA 2 - Análise estatística das variáveis de crescimento inicial do milho inoculado com BPCP em viveiro.

TABELA 3 - Descrição dos tratamentos do experimento em campo.

TABELA 4 - Análise estatística das variáveis do milho destinado à produção silagem.

TABELA 5 - Análise estatística das variáveis do milho destinado à produção de grãos.

QUADRO 1 - Análise de variância do experimento em viveiro.

QUADRO 2 - Análise de variância do experimento em campo - milho destinado produção de silagem.

QUADRO 3 - Análise de variância do experimento em campo - milho destinado à produção de grãos.

RESUMO

CORDEIRO, Jaíza Ellen Borges, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2017. **Desempenho agrônomo do milho em resposta à inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas.** Orientadora: Lílian Estrela Borges Baldotto. Coorientadores: Marihus Altoé Baldotto e Marcos Paiva del Giudice.

O Brasil se encontra em terceiro lugar no *ranking* mundial de produção de milho, o que contribui consideravelmente para o avanço do agronegócio do país. Contudo, há necessidade de incrementar a produtividade do milho devido ao aumento da demanda mundial por esse grão. Dessa maneira, torna-se necessário a utilização de práticas de manejo mais sustentáveis, de forma a otimizar a produção, proteger a biodiversidade dos agroecossistemas e amenizar os impactos ambientais. A inoculação de milho com bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP), mediante fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma técnica promissora, por possibilitar incremento da produtividade da cultura e redução no uso de fertilizantes. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi selecionar estirpes bacterianas previamente isoladas de orquídea e lodo de esgoto de abatedouro de aves e, avaliar seu potencial de promoção de crescimento em plantas de milho em condições de viveiro e campo. Para isso, dois experimentos foram instalados para avaliar as respostas do milho à inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas. O primeiro experimento foi desenvolvido em viveiro do tipo telado, no Setor de Floricultura da UFV-CAF e consistiu em uma avaliação do potencial de 24 bactérias isoladas de plantas de orquídea, as quais foram inoculadas em sementes de milho. A inoculação foi realizada pelo recobrimento das sementes de milho por duas horas com o meio bacteriano. O líquido restante foi aplicado uniformemente nos sulcos logo após a deposição das sementes em cada repetição. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições, a unidade experimental foi um vaso com duas plantas de milho. Aos dias 30 após o plantio foram avaliadas as variáveis, altura da planta, diâmetro do colmo, número de folhas, matéria fresca da raiz, matéria fresca da parte aérea, matéria fresca total, matéria seca da raiz, matéria seca da parte aérea, matéria seca total. O segundo experimento consistiu na aplicação das nove bactérias mais eficientes em promover o crescimento do milho em viveiro, no campo. A inoculação das sementes

de milho com as bactérias se deu de forma semelhante à do experimento I. O experimento foi conduzido em blocos casualizados, em condições de campo, no Setor de Horticultura da UFV-CAF. Aos 90 dias após o plantio foram analisadas as variáveis relacionadas ao milho para produção de silagem, sendo elas: altura da planta, altura de inserção das espigas, número de espigas, diâmetro do colmo, matéria fresca da parte aérea, matéria seca da parte aérea, conteúdo de nitrogênio na planta, conteúdo de fósforo e proteína bruta total do milho. Já aos 140 dias após o plantio foram realizadas as análises das variáveis do milho destinado à produção de grãos, sendo elas: número de fileiras de grãos por espiga, número de grãos por fileira, número de grãos por espiga, massa de 5 espigas sem palha, comprimento das espigas, massa de 1000 grãos, teor de nitrogênio nos grãos e produtividade do milho. Os dados correspondentes ao efeito da inoculação em ambos os experimentos foram submetidos à análise de variância, e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade. No presente trabalho foi verificado que a inoculação de sementes de milho com o isolado UFV-2212 em viveiro resultou em incrementos na matéria seca da raiz e matéria seca total de 75 % e 58 % respectivamente em relação ao tratamento controle. Em relação às análises do milho em campo atribuído à produção de silagem e grãos não foram encontradas respostas agronômicas favoráveis sobre o crescimento da planta e produtividade de grãos em comparação ao controle. Conclui-se, portanto, que a inoculação com BPCP, em viveiro proporcionou resultados positivos à cultura do milho, entretanto não refletiu em crescimento da planta e incrementos na produtividade dos grãos nas condições edafoclimáticas em que o trabalho foi realizado a campo. Portanto, há necessidade de novas pesquisas para aprimorar o processo de inoculação e permanência dos mecanismos bacterianos de promoção do crescimento de plantas à campo, pois verificou-se que a utilização de BPCP é uma prática promissora e com potencial para o desenvolvimento de formas de manejo mais sustentáveis.

ABSTRACT

CORDEIRO, Jaíza Ellen Borges, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2017. **Agronomic performance of corn in response to plant growth-promoting bacteria inoculation.** Adviser: Lílian Estrela Borges Baldotto. Co-Advisers: Marihus Altoé Baldotto and Marcos Paiva del Giudice.

Brazil is the world's third-largest corn producer, which contributes considerably for the great advance in agribusiness. However, there is a need to increase maize yield due its high global demand. Thus, it's necessary to use more sustainable management practices in order to optimize production, protect the agroecosystems biodiversity and mitigate the environmental impacts. The biological nitrogen fixation in corn, through inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) is a promising technique, since it allows an increase in crop yield and a reduction in the use of fertilizers. The objective of this work was to select bacterial strains previously isolated from orchid and from poultry slaughterhouse sewage sludge, and to evaluate their growth promotion potential in corn plants under seedlings nursery and field conditions. Two experiments were installed to evaluate corn responses to plant growth-promoting bacteria inoculation. The first experiment was carried out in a plant nursery at UFV-CAF and evaluated the potential of 24 isolated bacteria from orchid plants, each one inoculated in corn seeds. The inoculation was performed by soaking the corn seeds for two hours with the bacterial liquid. The remaining liquid was evenly applied to the grooves shortly after seed sowing on each replicate. The experiment was installed in a completely randomized design with six replicates, the experimental unit was a pot with two corn plants. Thirty days after planting the variables were evaluated, plant height, stem diameter, leaf number, fresh root matter, fresh shoot matter, total fresh matter, root dry matter, shoot dry matter, total dryness matter. The second experiment, in the field, consisted of the application of the nine most efficient bacteria to promote corn growth under nursery conditions. The corn

seeds inoculation process with the bacteria occurred similarly to the first experiment. It was conducted in randomized blocks, under field conditions, at UFV-CAF. Ninety days after sowing, the variables related to corn silage production were evaluated: plant height, cob insertion height, number of cobs, stem diameter, shoot fresh matter, aerial shoot dry matter, nitrogen content, phosphorus content and total crude protein of corn. A hundred and forty days after planting, the following variables for grain production were evaluated: number of rows per cobs, number of grains per row, number of grains per cob, mass of 5 cobs without husk, cob length, mass of 1000 grains, nitrogen content in the grain and corn yield. The data corresponding to the effect of the inoculation in both experiments were submitted to analysis of variance, and the means of the treatments were compared by Tukey test, at 5% probability. It was verified that the corn seeds inoculation with PGPB in nursery, resulted in increases of 58% in total dry matter in relation to the control treatment using the isolate UFV2212. In grain and silage production, no agronomic responses were found. It was concluded that inoculation with PGPB in nursery conditions provided positive results for corn seedlings, however it did not reflect in yield increments under the edaphoclimatic conditions in which this work was carried out. Therefore, it is necessary to have new researches to better understand the inoculation process and how to improve bacterial survival in the field, since it has been verified that the use of PGPB is a promising practice for sustainable agriculture.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* (L.)) é uma gramínea pertencente à família *Poaceae*. Possui elevada importância econômica no cenário da produção agrícola mundial, sendo consumido e cultivado em diversas partes do mundo, devido às suas qualidades nutricionais. A cultura do milho possui inúmeras aplicações, que vão desde a alimentação animal, por meio da produção de ração, alimentação humana, na forma de farinhas, óleos e flocos, à indústria de alta tecnologia, como a produção de biocombustível (FORNASIERI FILHO, 2007; CRUZ et al., 2011; CONAB, 2013; JUN-HONG & BO, 2016; USDA, 2016).

A produção de milho apresenta elevação desde a década de 80 e segundo CALDARELLI e BACCHI (2012) é uma das atividades econômicas mais importantes do agronegócio brasileiro, correspondendo a 39,63% da produção nacional de grãos (CONAB, 2016). O Brasil ocupa a terceira posição no ranking mundial da produção de milho, com 85 milhões de toneladas métricas na safra 2014/2015, sendo, portanto autossuficiente para o consumo interno, estando atrás apenas dos Estados Unidos (361,09 milhões de toneladas) e da China (215,65 milhões de toneladas) (USDA, 2016). Dentre os principais estados brasileiros produtores de milho estão Mato Grosso, Paraná, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo, Santa Catarina, e Bahia, em ordem decrescente de produção na safra de 2014/2015, sendo Minas Gerais responsável por 8% da produção nacional (IBGE, 2015; CONAB, 2016).

A inovação e tecnificação da agricultura, a exemplo da utilização de sementes tratadas, cultivares melhoradas, práticas manejo adequado do solo e da água, nutrição vegetal e controle fitossanitário, possibilitam incremento do potencial produtivo do milho, uma vez que aumentam a produção por unidade de área, refletindo em crescimento significativo de seu cultivo ao longo dos anos (CRUZ et al., 2010; FARINELLI & CERVEIRA JUNIOR, 2015). Nesse sentido, a utilização de práticas tecnológicas influencia diretamente a produtividade e os custos de produção da cultura (CONAB, 2014).

A crescente demanda global por esse grão, em consequência ao aumento estimado de 33% da população mundial entre 2009 - 2050 (FAO, 2009), sugere necessária expansão das áreas de plantio e/ou produtividade da cultura para manter o fornecimento desse alimento e a qualidade de vida da população (CONAB, 2015). Dessa maneira, faz-se necessário o investimento no aprimoramento dos sistemas de produção, com vistas ao aumento da produtividade e rentabilidade que a cultura proporciona (Cruz et al., 2010).

Entretanto, a baixa fertilidade do solo compreende um fator responsivo à baixa produtividade do milho e grãos em geral. Ademais, a agricultura em regiões de clima tropical apresenta entraves, como a baixa disponibilidade natural de N e P nos solos, sendo necessárias dosagens adicionais desses nutrientes (RAIJ, 1991; RAIJ, 2004; FORNASIERI FILHO, 2007).

O uso de fertilizantes sintéticos com o objetivo de suprir a demanda da cultura e incrementar a produtividade da planta (FRAZÃO et al., 2014) tem se tornado uma prática dispendiosa, uma vez que os custos para obtenção do produto estão cada vez mais elevados, acarretando evasão de recursos financeiros da propriedade rural e onerando a rentabilidade da lavoura (PÖTTKER & WIETHÖLTER, 2004; SILVA et al., 2005; DIAS & FERNANDES, 2006; SANTOS et al., 2013). Além disso, há diversos impactos ambientais negativos nos ecossistemas gerados pela fabricação destes fertilizantes, devido à alta demanda energética do processo e esgotamento de jazidas naturais (RICHARDSON, 2001; MALAJOVICH, 2011; MARENGONI et al., 2013; ROCHA et al., 2013; e-CYCLE, 2014).

Nesse sentido, veem sendo estudados o emprego de novas tecnologias almejando a diminuição da utilização dos fertilizantes sintéticos, a implementação de práticas de manejo agrícola mais sustentáveis que possibilitem a preservação dos serviços ecossistêmicos, além de priorizar a diversidade natural e emissão de menores quantidades de poluentes (HUNGRIA, 2011; SMITH & KURTZ, 2015). Dentre essas novas tecnologias com grande potencial para diminuir a dependência de fertilizantes sintéticos, está a formulação de inoculantes e/ou biofertilizantes contendo bactérias promotoras de crescimento e proteção de plantas, que têm apresentado resultados

satisfatórios para várias culturas (HALLMANN et al., 1997; BALDOTTO et al., 2010).

A promoção do crescimento e proteção de plantas pela inoculação de bactérias é proporcionada pela capacidade das mesmas em fixar biologicamente o nitrogênio atmosférico, solubilizar fosfato de cálcio, óxidos de zinco, sintetizar fitohormônios e sideróforos, realizar controle biológico (ação antagônica a determinados fungos e bactérias patogênicas) e induzir resistência sistêmica na planta hospedeira (HALLMANN et al., 1997, BABALOLA, 2010; HAYAT et al., 2010, SOKOLOVA et al., 2011).

Dessa maneira, estudos relacionados à avaliação da atuação de bactérias promotoras de crescimento em plantas de milho, são muito importantes para a implementação de um manejo agrícola baseado na utilização sustentável dos recursos naturais e preservação da biodiversidade dos agroecossistemas.

2. HIPÓTESES

Bactérias isoladas de folhas e raízes de plantas de orquídea têm potencial para promover o crescimento inicial de plantas de milho em viveiro.

Bactérias diazotróficas isoladas do lodo de esgoto de abatedouro de aves e plantas de orquídea promovem o crescimento e desenvolvimento de plantas de milho em campo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar em viveiro e campo, o desempenho de plantas de milho inoculadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas.

3.2. Objetivos específicos

Selecionar, com base nos resultados obtidos em viveiro, isolados bacterianos diazotróficos promotores de crescimento e desenvolvimento de plantas de milho.

Avaliar o desempenho agrônômico do milho em resposta à inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. A cultura do milho

O milho (*Zea mays* (L.)) é uma gramínea de ciclo anual pertencente à família *Poaceae*. É considerado uma planta muito eficiente na conversão da radiação solar em produção de biomassa, por apresentar mecanismo C4 de fixação de CO₂ e extensa área foliar (SANGOI et al., 2012; TAIZ & ZEIGER, 2013).

Estudos apontam que possivelmente o milho é originário do Continente Americano, local onde são encontradas as espécies selvagens geneticamente mais próximas (teosinte e *Tripsacum*). Desde os primórdios da agricultura, há aproximadamente 10.000 anos, o milho tem sido cultivado pelo homem, iniciando assim o seu processo de domesticação (PATERNIANI & CAMPOS, 2005). A partir de então, o ser humano vem selecionando os atributos genéticos com características agronômicas favoráveis, a fim de se obter uma planta que atenda às suas necessidades e, dessa maneira, utilizar a cultura de forma mais eficiente visando a produção de alimentos (BORÉM et al., 2015).

A cultura do milho possui elevada importância econômica no cenário da produção agrícola mundial, sendo consumido e cultivado em diversas partes do planeta devido às suas qualidades nutricionais. O milho é considerado um cereal de alto valor energético, por possuir grande quantidade de amido acumulado no endosperma (GALVÃO et al., 2015). Além disso, suas características morfofisiológicas favorecem sua adaptação nos diversos domínios biogeográficos. Este grão apresenta aplicações diversas em todo o mundo, que vão desde a alimentação animal, por meio da produção de ração, principalmente aves e suínos; alimentação humana, na forma de farinhas, óleos e flocos; à indústria de alta tecnologia, participando de diversos processos da indústria alimentícia, de bebidas e produção de biocombustível, tal como o etanol (FORNASIERI FILHO, 2007; CRUZ et al., 2011; CONAB, 2013; USDA, 2016). Portanto, manifesta-se como produto estratégico para a segurança alimentar da população mundial.

A produção de milho apresenta elevação desde a década de 80 e segundo CALDARELLI e BACCHI (2012) é uma das atividades econômicas mais importantes do agronegócio brasileiro, correspondendo a 39,63% da produção nacional de grãos

(CONAB, 2016). O Brasil ocupa a terceira posição no *ranking* mundial da produção de milho, com 85 milhões de toneladas métricas na safra 2014/2015, sendo, portanto auto suficiente para o consumo interno, estando atrás apenas dos Estados Unidos (361,09 milhões de toneladas) e da China (215,65 milhões de toneladas) (USDA, 2016). Dentre os principais estados brasileiros produtores de milho estão Mato Grosso, Paraná, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo, Santa Catarina, e Bahia, em ordem decrescente de produção na safra de 2014/2015, sendo Minas Gerais responsável por 8% da produção nacional (IBGE, 2015; CONAB, 2016).

De acordo com a CONAB (2016), a estimativa da área total cultivada com milho na primeira e segunda safra no Brasil na safra de 2014/15 totalizou aproximadamente 15 milhões hectares, 2,2% menor que a cultivada na safra passada, ou seja apresentou redução de 300 mil hectares. Sendo que, essa redução na área plantada com milho, se deve possivelmente à preferência por parte dos agricultores pelo cultivo da soja. Em relação ao cultivo de milho em 2016 a CONAB (2016) estima uma redução na área plantada e produção da primeira safra em comparação com 2014/15, e para a segunda safra, a expectativa é de leve aumento de área.

No que se concerne a oferta e demanda de milho no mercado externo, em janeiro de 2016 não houve alterações significativas nos preços deste cereal na Bolsa de Chicago, variando entre US\$ 3,5 e 3,7/ bushel (US\$ 137,78 a 145,66/t), respectivamente. Já os dados do mercado interno apresentaram aumento dos preços, em consequência à desvalorização do real frente ao dólar e à grande demanda interna, principalmente no setor de ração animal. Com isso, o mercado exportador foi priorizado pelos agricultores nos meses de ago/set/out/nov/dez de 2015 e jan de 2016, reduzindo a oferta interna do grão. Por essa razão, aumentou-se consideravelmente os preços do produto no mercado brasileiro (ago/2015 - R\$ 22,00 / 60 kg; mar/2016 - R\$35,00 / 60 kg) (BM&FBOVESPA, 2016; AGROLINK, 2016), de forma que, atualmente os produtores que ainda detém estoque de milho disponível para venda é mais vantajosa a negociação interna.

A inovação e tecnificação da agricultura, a exemplo da utilização de sementes melhoradas, cultivares selecionadas e/ou transgênicas, práticas manejo adequado do solo e da água, nutrição vegetal e controle fitossanitário, possibilitam incremento do

potencial produtivo do milho, uma vez que aumentam a produção por unidade de área, refletindo em crescimento significativo de seu cultivo ao longo dos anos (CRUZ et al., 2010; FARINELLI & CERVEIRA Junior, 2015)

Ademais, o conhecimento da fenologia da planta, é uma informação importante por tornar possível o estudo dos eventos periódicos do desenvolvimento da cultura decorrente às condições ambientais. Pensando nisso, RITCHIE et al., (1993) utilizaram uma escala fenológica para determinar o estágio da planta com maior precisão, na qual foi sugerida uma divisão em estádios vegetativos e estádios reprodutivos (Figura 1). Com base nisso, é possível a aplicação adequada das práticas agrônômicas e, por conseguinte maior sucesso na lavoura.

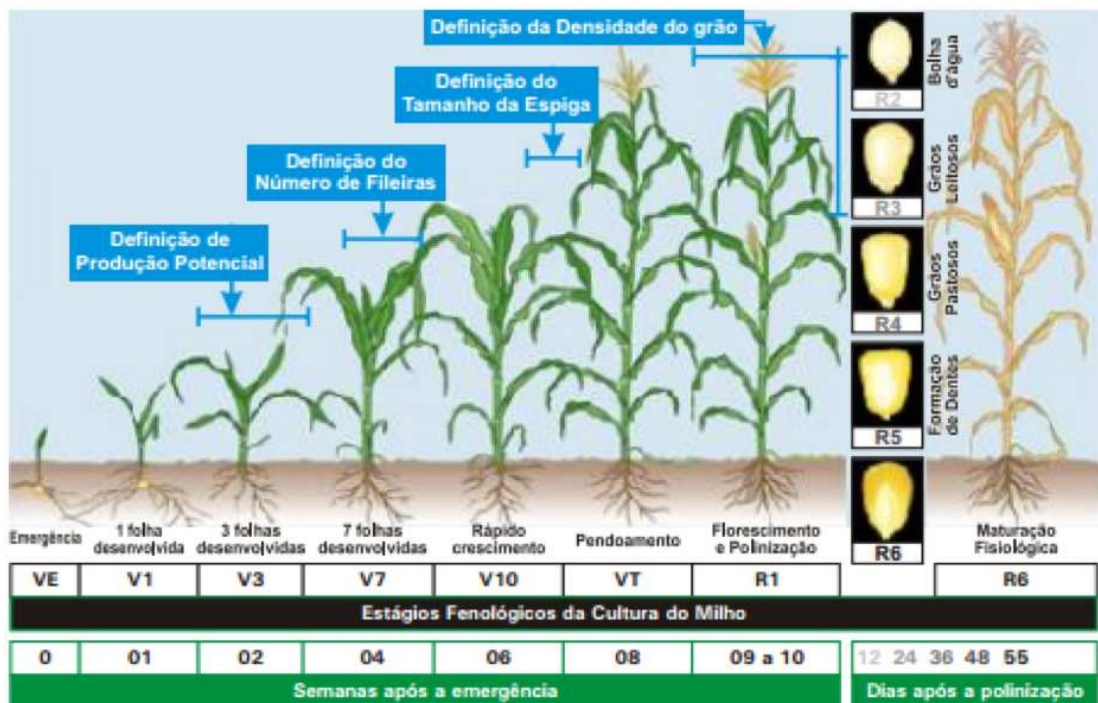


Figura 1. Fases de desenvolvimento da cultura do milho. Adaptado de FANCELLI (1986) e Iowa State University Extension (1993), citado por MARTIN WEISMANN (2007).

A crescente demanda global por esse grão, devido ao aumento estimado de 33% da população mundial entre 2009 - 2050 (FAO, 2009), sugere necessária expansão das áreas de plantio e/ou produtividade da cultura para manter o fornecimento desse alimento e a qualidade de vida da população (CONAB, 2015). Dessa maneira, faz-se necessário o investimento no aprimoramento dos sistemas de

produção, com vistas ao aumento da produtividade e rentabilidade que a cultura proporciona (CRUZ et al., 2010).

Entretanto, a baixa fertilidade do solo compreende um fator responsivo à baixa produtividade do milho e grãos em geral (PAIVA et al., 2012). A agricultura em regiões de clima tropical apresenta entraves como a baixa disponibilidade natural de Nitrogênio (N) e Fósforo (P) nos solos, sendo necessárias dosagens adicionais destes nutrientes (RAIJ, 1991; RAIJ, 2004; FORNASIERI FILHO, 2007).

O N é essencial no metabolismo vegetal, pois participa da biossíntese de proteínas e clorofilas, sendo utilizado em todos os estádios fenológicos da cultura e, participa também de diversas rotas metabólicas bioquimicamente importantes (ANDRADE et al., 2003; SANGOI et al., 2008; SORATTO et al., 2010). Nesse sentido, plantas de milho com deficiência de N apresentam amarelecimento das folhas mais velhas, morte prematura de folhas e/ou plantas, espigas de tamanho reduzido com extremidades achatadas e grãos com baixa densidade, colmos finos e aumento da taxa de tombamento de plantas (FANCELLI, 2000; FERREIRA, 2012).

Segundo FORNASIERI FILHO (2007) a solubilidade reduzida dos compostos de P existente no solo e a elevada capacidade de adsorção do elemento por partículas de argilas 1:1 e óxihidróxidos de ferro e de alumínio presentes nos solos tropicais, são responsáveis pela baixa disponibilidade desse nutriente que, durante todo o ciclo do milho desempenha papel fundamental para o crescimento e desenvolvimento da planta. Este nutriente atua no metabolismo da planta influenciando o armazenamento e a transferência de energia, bem como constituinte de biomoléculas essenciais como os ácidos nucleicos, fitina e fosfolipídios (Epstein & Bloom, 2006) e aumento da produção de sólidos solúveis (SANTOS et al. 2011). Dessa maneira, o suprimento adequado de nutrientes constitui uma prática fundamental para a obtenção de melhores resultados na produção.

O uso de fertilizantes sintéticos com o objetivo de suprir a demanda da cultura e incrementar a produtividade da planta (FRAZÃO et al., 2014) tem se tornado uma prática dispendiosa, uma vez que os custos para obtenção do produto estão cada vez mais elevados, acarretando evasão de recursos financeiros da propriedade rural e onerando a rentabilidade da lavoura (PÖTTKER & WIETHÖLTER, 2004; SILVA et al., 2005; DIAS & FERNANDES, 2006; SANTOS et al., 2013). Segundo DEBRUIN

& BUTZEN (2014), a aquisição de fertilizantes nitrogenados pode ser responsável por 15 a 20% dos custos variáveis da lavoura, sendo que, de acordo com os dados do INDEXMUNDI (2016) a tonelada métrica de ureia custa atualmente cerca de US\$ 209,00. Além disso, há diversos impactos ambientais negativos nos ecossistemas gerados pela fabricação destes fertilizantes, devido à alta demanda energética do processo de fabricação de fertilizantes nitrogenados e esgotamento de jazidas naturais na extração do fósforo (RICHARDSON, 2001; MARENGONI et al., 2013; ROCHA et al., 2013; e-CYCLE, 2014).

Outro problema, é que grande quantidade dos nutrientes adicionados às lavouras não são absorvidos pelas plantas, podendo ser lixiviados para corpos d' água acarretando eutrofização dos mesmos e desencadeando danos no contexto econômico, ambiental e de saúde pública. Além disso, podem também volatilizar para a atmosfera na forma de gases de efeito estufa, por meio da nitrificação e desnitrificação realizada por microrganismos, ocasionando prejuízos em escala global (ADESEMOYE & KLOPPER, 2009).

4.2. Bactérias promotoras de crescimento em plantas

Diante do exposto, o modelo de produção atual necessita da implementação de novas técnicas, tecnologias e políticas a fim de se fazer uso mais racional dos recursos disponíveis. Dentre essas novas tecnologias, como alternativa com grande potencial para diminuir a dependência de fertilizantes sintéticos está o uso de bactérias promotoras de crescimento e proteção de plantas, as quais possuem a capacidade de elevar a produção agrícola ao interagir com os vegetais e já têm apresentado resultados eficientes para várias culturas, como abacaxi (BALDOTTO et al., 2010), trigo (NOZAKI et al., 2013), arroz (FERREIRA et al., 2013; OSÓRIO FILHO et al., 2015), soja (MASCIARELLI et al., 2014), tomate (SZILAGYI-ZECCHIN, 2015), entre outras.

Microrganismos e as plantas participam de um ecossistema complexo, no qual diferentes ambientes são explorados por uma extensa variedade de seres vivos, dentre eles, as bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCP). As BPCP podem colonizar tanto a superfície externa do vegetal (rizoplano ou filoplano), nesse caso sendo chamadas de epifíticas, quanto o interior dos tecidos vegetais, denominadas

endofíticas (HALLMANN et al., 1997). Muito embora, segundo HALLMANN et al., (1997) essa classificação entre bactérias endofíticas, epifíticas e fitopatogênicas foi estabelecida para fins didáticos, uma vez que, determinadas populações bacterianas podem oscilar entre a colonização endofítica e/ou epifítica, o que dificulta essa distinção.

Estes microrganismos ocorrem naturalmente em todos os tipos de plantas, estando na grande maioria das vezes associados às raízes das mesmas. As bactérias epifíticas comumente habitam locais protegidos na superfície dos tecidos vegetais, utilizando fontes externas para a obtenção de exsudados e nutrientes, sem apresentar patogenicidade. Já as bactérias endofíticas são normalmente encontradas nos tecidos internos da planta, estabelecendo-se pela colonização dos espaços intercelulares do parênquima cortical, podendo também através lúmen do xilema colonizar sistematicamente toda a planta, sem causar nenhum sintoma de doença (AGARWAL & SHENDE, 1987; PETRINI, 1991). A penetração pode ocorrer passivamente por meio das cavidades geradas pela emergência de raízes laterais e pela ruptura de células epidérmicas (OLIVARES, 1997; BALDOTTO et al., 2011).

As BPCP desempenham papel relevante no funcionamento das plantas, influenciando de forma direta ou indireta a fisiologia e o desenvolvimento do vegetal. Em relação aos mecanismos diretamente relacionados à promoção do crescimento pelas BPCP, está a capacidade das mesmas em fixar biologicamente o nitrogênio (ZAHARAN, 2001), produzir ou alterar as concentrações de fitohormônios, tais como auxinas, citocininas, giberelinas (TIEN et al., 1979; VACHERON et al., 2013) e etileno (GLICK et al., 1995), solubilizar fosfato de cálcio, óxidos de zinco e ferro (RODRIGUEZ et al., 2006), produzir sideróforos e enzimas, e induzir resistência sistêmica na planta hospedeira (VAN LOON, 2007).

A promoção do crescimento por vias indiretas está associada ao biocontrole, envolvendo a síntese de antibióticos, agentes quelantes de Fe na rizosfera e a síntese de enzimas extracelulares, capazes hidrolisar a parede celular fúngica (VAN LOON, 2007). Em contrapartida, a planta libera exsudados pelas suas raízes, caracterizados como fontes de carbono que permitem de forma seletiva, a nutrição e o desenvolvimento bacteriano (FRANCHE et al., 2009). Como exemplo da utilização biotecnológica das BPCP, relacionada ao biocontrole, há a introdução de genes da

bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (Bt) ao material genético do milho, transformando o em milho transgênico, o que confere proteção à planta contra insetos, já que a bactéria produz uma proteína tóxica às esses herbívoros (FERNANDEZ-CORNEJO et al., 2014)

Existem ainda, autores que indicam outros benefícios desses microrganismos nos vegetais, incluindo: incremento na taxa de germinação de sementes, efeitos favoráveis à emergência de plântulas, crescimento e desenvolvimento de órgãos vegetativos, produção de flores e rendimento das culturas em condições de casa de vegetação e de campo (LAZARETTI & BETTIOL, 1997; AMORIM & MELO, 2002; DEY et al., 2004).

A capacidade de incrementar a produção agrícola através das BPCP se dá pelo resultado da ação concomitante de vários desses mecanismos acima descritos (MARTINEZ-VIVEROS et al., 2010). Tais mecanismos atuam também expandindo a absorção de nutrientes e água (DOBBELAERE et al., 2003). Além disso, a especificidade da interação entre as BPCP e as plantas varia de acordo com as características genéticas das espécies envolvidas.

Desde 1956, esses organismos vêm sendo estudados no Brasil com a finalidade de incrementar produtividade às culturas de interesse agrícola. Sendo que, na década de 80 ficou comprovado os efeitos benéficos relacionados à disponibilização de nitrogênio que algumas espécies de plantas (como milho, trigo, arroz, cana-de-açúcar) podem obter quanto associadas à esses microrganismos (BODDEY & DÖBEREINER, 1988). A eficiência das BPCP pode ser influenciada por inúmeros fatores, dentre eles a quantidade e qualidade dos microrganismos inoculados, o método usado para inoculação, a estirpe bacteriana, o genótipo da planta, a fase de desenvolvimento da cultura no ato da inoculação, as condições edafo-climáticas do ambiente, interações com a microbiota nativa, a fitossanidade das plantas, adição inadequada de nutrientes no solo através da fertilização e muitos outros fatores (MELNICK et al., 2008; MATSUMURA et al., 2015).

Contudo, a capacidade desses microrganismos em fixar nitrogênio atmosférico e de solubilizar nutrientes do solo são atributos promissores por possibilitar uma redução significativa (aproximadamente 50%) na aplicação de fertilizantes sintéticos, sem acarretar em perdas na produtividade (HAYAT et al., 2010; GOOD & BEATTY,

2011; MIRANSARE, 2011). Resultados demonstrando a eficiência desses microrganismos como substitutos de produtos agropecuários à base de uréia, já foram elucidados para alguns gêneros como: *Azotobacter*, *Clostridium*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia* (BODDEY & DÖBEREINER, 1995; BASHAN & BASHAN, 2010)

Nesse sentido, baseado no mecanismo que apresentam, as BPCP podem ser utilizadas de maneira potencial nas formulações de inoculantes e biofertilizantes. De acordo com a legislação brasileira vigente (Lei No 6.984 de 1980, regulamentada pelo Decreto No 4.954 de 2004), é classificado como inoculante o produto que contenha microrganismos com atuação favorável ao crescimento de plantas, entendendo-se como: a) suporte: material excipiente e esterilizado, livre de contaminantes segundo os limites estabelecidos, que acompanha os microrganismos e tem a função de suportar ou nutrir, ou ambas as funções, o crescimento e a sobrevivência destes microrganismos, facilitando a sua aplicação; b) pureza do inoculante: ausência de qualquer tipo de microrganismos que não sejam os especificados. Em relação aos biofertilizantes, esse decreto os considera como o produto que contém princípio ativo ou agente orgânico, isento de substâncias agrotóxicas, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade, sem ter em conta o seu valor hormonal ou estimulante.

4.3. Fixação biológica de nitrogênio (FBN)

Dentre os diversos tipos de bactérias existentes, as BPCP têm uma característica muito peculiar, que é a capacidade de converter o nitrogênio atmosférico em amônia através da enzima nitrogenase, tornando-o disponível para as plantas (BODDEY & DÖBEREINER, 1995; MOREIRA et al., 2010; TIKHONOVICH & PROVOROV, 2011; ZHAN & SUN, 2012). Esse grupo de bactérias, competentemente quebra a forte ligação covalente tripla do dinitrogênio (N₂) atmosférico, e então, agregam esse nitrogênio a biomoléculas, por essa razão são classificadas como diazotróficas. Dessa maneira, as BPCP quando associadas à rizosfera dos vegetais podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada, o que tem instigado grande interesse por parte de pesquisadores em biotecnologia (CAVALLET, 2006). As bactérias diazotróficas podem apresentar variados hábitos de

vida que vão desde a vida livre até associações simbióticas específicas (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). O nitrogênio é um dos minerais mais importantes para o desenvolvimento e produtividade de diversas culturas, inclusive para o milho (CANCELLIER, 2011), por participar de rotas metabólicas importantes, da síntese de proteínas, ser constituinte de várias biomoléculas, como ATP, NADH, NADPH, ácidos nucleicos, aminoácidos, bases nitrogenadas, clorofila, dentre outros (SANGOI et al., 2008; TAIZ & ZEIGER, 2013). Reafirmando essa importância BASI et al. (2011) demonstraram que o N influencia positivamente a qualidade dos grãos de milho, certificando que, ao fornecer quantidades adequadas de N a planta de milho produziu uma silagem de maior valor nutricional. FERREIRA et al. (2001) também mostraram que a adubação nitrogenada melhorou a qualidade dos grãos, aumentando os teores de proteína e nutrientes minerais, e se mostrou eficiente para o incremento em produtividade de plantas de milho.

No entanto, a maior parte do nitrogênio se encontra na atmosfera (93,8%) na forma de N_2 , sendo que, nesta forma química não é absorvido pelas plantas. Para que este nutriente esteja acessível aos vegetais é necessária a atuação de microrganismos capazes de reduzi-lo em substâncias, como a amônia, que podem ser facilmente assimiladas pelos vegetais e outros seres vivos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). Corroborando com essa ideia, MOREIRA et al., (2013) mostraram que as BPCP são capazes de incrementar entre 20 e 30% nas concentrações de N em gramíneas, englobando o milho. Com base nisso, novas pesquisas nessa área são almejadas, com o intuito de elucidar as BPCP mais promissoras para melhor desempenhar esse papel na cultura do milho, uma vez que a mesma, demanda grandes quantidades de fertilizantes nitrogenados, sendo considerada responsável pelo segundo maior consumo (~900 mil toneladas) entre as culturas agrícolas em 2013, ficando atrás apenas da cana-de-açúcar (INTL FCSTONE, 2013).

Nesse sentido, as BPCP desempenham papel extremamente importante para a manutenção da vida na terra, uma vez que, com exceção das BPCP diazotróficas a única fonte natural capaz de tornar o N disponível aos seres vivos é por meio da liberação de descargas elétricas na atmosfera: a alta energia oriunda dos relâmpagos consegue romper a ligação do dinitrogênio, facilitando sua reação com outras moléculas, e conseqüentemente transformando o em formas assimiláveis pelos

organismos vivos. Porém, a quantidade de N fixada dessa forma, expressa apenas 2,5% do nitrogênio fixado naturalmente (BORUCKI & CHAMEIDES, 1984). Logo, a FBN constitui o principal meio de entrada de N nos ecossistemas naturais e agrários (CLEVELAND et al., 1999).

Por demandar grande quantidade de energia (são necessárias 16 moléculas de ATP para cada molécula de dinitrogênio quebrada) a FBN requer enzimas catalizadoras especializadas, como a nitrogenase, que possui sítios específicos capazes de viabilizar a troca de alta energia dos elétrons. Além disso, o oxigênio pode danificar esses sítios pelo fato de atuar como aceptor de elétrons, inativando a nitrogenase, por isso a FBN requer condições anaeróbicas. Dessa maneira, devido a essa sensibilidade ao oxigênio atmosférico os organismos que fazem a FBN apresentam condições naturalmente anaeróbicas ou desenvolvem internamente um ambiente isento de oxigênio (TAIZ & ZEIGER, 2013). Ademais, a célula somente fixa nitrogênio atmosférico quando não encontra outra fonte de nitrogênio mais acessível para ser assimilada em seu ambiente (ZEHR et al., 2000).

REIS et al., (2000) descreve que nas interações entre gramíneas, como é o caso do milho e BPCP não são produzidos nódulos (órgãos especiais da planta onde normalmente se desenvolvem as bactérias), nesse caso as BPCP colonizam os tecidos ou a superfície da planta hospedeira, especialmente nas imediações da zona de alongamento e pêlos radiculares. Além de tornar o N acessível aos seres vivos as BPCP garantem reposição do N perdido com a queima da biomassa vegetal cortada ou consumida pelos animais nos ecossistemas.

HUNGRIA (2011) relata aumento da produtividade da cultura do milho devido à inoculação com *Azospirillum* e correlaciona esse efeito positivo à capacidade de FBN e aumento de outros nutrientes, como o P e K por parte desse microrganismo. A autora afirma ainda que a utilização de inoculantes contendo a BPCP *Azospirillum brasilense* pode suceder em uma economia estimada de US\$ 2 bilhões por ano.

CANELLAS e colaboradores (2012) observaram que a aplicação de substâncias húmicas concomitante à de bactérias diazotólicas endofíticas incrementou a produção de grãos em 65% em condições de campo, sugerindo que os ácidos húmicos podem expandir o efeito benéfico das BPCP. Em adição, BALDOTTO et al., (2010) verificaram que a aplicação de ácidos húmicos aumenta a eficiência da

inoculação de BPCP, acelerando o desenvolvimento das mudas inoculadas de abacaxizeiro, propagadas *in vitro* e diminuindo o tempo de aclimatização.

Ademais, HUNGRIA et al., (2010) e NOVAKOWISKI et al., (2011) observaram que a inoculação de milho com *Azospirillum brasilense* pode estimular o desenvolvimento do sistema radicular, mediante a liberação de hormônios de crescimento, como auxinas, por parte desse microrganismo, colaborando com melhor eficiência do uso do N do solo.

Em contrapartida, REPKE et al., (2013) e VOGT et al., (2014), avaliando o efeito de inoculantes contendo *Azospirillum* spp. na cultura do milho em condições de campo, não encontraram resultados que mostrasse benefícios efetivos da utilização das BPCP sobre a produtividade e desenvolvimento das plantas. No trabalho de SANGOI et al., (2015) o tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. também não apresentou melhora no desempenho agrônomo do milho.

Desse modo, visando melhor compreensão da atuação desses microrganismos na produtividade das plantas e maior consenso entre os resultados das pesquisas, estudos relacionados ao uso de BPCP, de forma a aumentar a eficiência de utilização dos fertilizantes, bem como maior aporte de nitrogênio via fixação biológica se mostra uma estratégia economicamente viável, além dos benefícios ambientais associados à redução no uso de fertilizantes sintéticos.

5. TRABALHOS

5.1. Crescimento do milho em resposta à inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas em viveiro.

5.1.1. Resumo

CORDEIRO, Jaíza Ellen Borges, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2017. **Crescimento inicial do milho em resposta à inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas**. Orientadora: Lílian Estrela Borges Baldotto. Coorientadores: Marihus Altoé Baldotto e Marcos Paiva del Giudice.

A fertilização nitrogenada representa grande parte dos custos econômicos e ambientais para a produção de grãos em geral, inclusive do milho. Entretanto, o aumento da população mundial aliado à demanda crescente por este grão evidencia a necessidade de se buscar sistemas de manejo mais sustentáveis a fim de diminuir a aplicação de fertilizantes sem perdas no rendimento das culturas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento do milho em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas, isoladas de folhas e raízes de orquídea, em condições de viveiro. O experimento consistiu em 25 tratamentos, sendo 24 bactérias isoladas de plantas de orquídea e um tratamento controle, as quais foram inoculadas em sementes de milho. A inoculação foi realizada pelo recobrimento das sementes de milho por duas horas com o meio bacteriano. O líquido restante foi aplicado uniformemente nos sulcos logo após a deposição das sementes em cada repetição. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições e tendo como unidade experimental um vaso contendo duas plantas de milho. Aos 30 dias após plantio, as plantas foram coletadas para a mensuração das seguintes variáveis: altura da planta (ALT); diâmetro do colmo (DC); número de folhas (NF); matéria fresca da raiz (MFR); matéria fresca da parte aérea (MFPA); matéria fresca total (MFT); matéria seca da raiz (MSR); matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca total (MST). A estirpe UFV-2212, isolada de folhas de *Dendrobium nobile*, apresentou as maiores médias para as variáveis de crescimento analisadas, em especial à matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) de 1,28g e 1,58g respectivamente, o que corresponde a um aumento de 75% e 58% em relação ao tratamento controle. Foi possível concluir, portanto, que bactérias diazotróficas que habitam folhas de

Dendrobium nobile têm potencial para promoção do crescimento e desenvolvimento inicial de milho, podendo ser utilizada como alternativa para estimular o desenvolvimento vegetal e enriquecimento de inoculantes e ou biofertilizantes.

Palavras chave: Diazotróficas, inoculação, desenvolvimento vegetal, biofertilizantes.

5.1.2. Abstract

CORDEIRO, Jaíza Ellen Borges, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2017. **Corn seedling growth in response to plant growth-promoting bacteria inoculation in nursery.** Adviser: Lílian Estrela Borges Baldotto. Co-Advisers: Marihus Altoé Baldotto and Marcos Paiva del Giudice.

Nitrogen fertilization represents an important part of the economic and environmental costs for grains production, including corn. However, the increase in the world population combined with growing demand for this grain shows the importance for sustainable management systems to reduce the amount of fertilizers used without reducing crop yield. The objective of this work was to evaluate corn growth in response to inoculation with diazotrophic bacteria isolated from orchid leaves and roots under nursery conditions. The experiment consisted of 25 treatments, 24 bacteria isolated from orchid plants plus a control, which were inoculated in corn seeds. The inoculation was performed by coating the corn seeds for two hours with the bacterial liquid. The remaining liquid was evenly applied to the grooves shortly after seed sowing on each replicate. Thirty days after sowing the plants were used to measure the following variables: plant height (ALT); stem diameter (DC); leaves number (NF); fresh root matter (MFR); aerial part fresh matter (MFPA); total fresh matter (MFT); root dry matter (MSR); aerial part dry matter (MSPA) and total dry matter (MST). Out the strains evaluated, the ones that provided the greatest increases in the variables MSR and MST were UFV 2212. The experiment was installed in a completely randomized design, with six replicates and having as experimental unit a pot containing two corn plants. The data corresponding to the effect of the inoculation in experiment were submitted to analysis of variance, and the means of the treatments were compared by Tukey test, at 5% probability. Inoculation with strain UFV-2212 resulted in a root dry matter and total dry matter of 1,28g and 1,58g respectively which corresponds to an increase of 75% and 58% respectively in relation to the control. It is possible to conclude, therefore, that diazotrophic bacteria that naturally inhabit *Dendrobium nobile* leaves and *Epidendrum secundum* roots have the potential to be used as an alternative to stimulate plant development and enrichment of inoculants and / or biofertilizers.

Keywords : Diazotrophic, inoculation, plant development, biofertilizers.

5.1.3. Introdução

Aliado ao aumento da população mundial há uma demanda por incrementos na produção das principais culturas de importância agrícola e por resultados econômicos significativos nos sistemas de produção de grãos, principalmente do milho, visando redução de custos, aumento de produtividade e utilização de práticas de manejo mais sustentáveis.

A cultura do milho apresenta alto valor energético, o que demonstra seu potencial para atender e suprir parte da necessidade mundial de alimentos, tanto humana como animal e como matéria prima para indústria, entre outros (GARCIA et al., 2006)

Frente ao exposto, concomitantemente ao aumento da produtividade do milho aumentou-se também a exigência por adubação, sendo essa indispensável, principalmente a nitrogenada. A adubação nitrogenada proporciona estímulo no desenvolvimento da planta como um todo, uma vez que o nitrogênio (N) desempenha atividade direta em componentes essenciais da célula vegetal, como na constituição de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos, fitocromos, pigmentos fotossintéticos e está associado com os mais importantes processos fisiológicos das plantas, tais como fotossíntese, respiração, desenvolvimento e atividade das raízes, absorção iônica de outros nutrientes, crescimento, diferenciação celular e genética (RAO et al., 1992; BÜLL, 1993; TAIZ & ZEIGER, 2013). Conseqüentemente, o crescimento da planta é beneficiado aumentando a área fotossinteticamente ativa da mesma e síntese de fotoassimilados, que são translocados para os grãos (BÜLL, 1993) proporcionando incremento na produtividade.

No entanto, a utilização do N como fertilizante sintético nas lavouras, é uma prática verdadeiramente dispendiosa devido ao fato do processo industrial de fixação de N₂, apresentar elevado custo econômico (representa cerca de 70% do custo de adubação do milho (MACHADO et al., 1998). Além disso, os danos ambientais devido à degradação de recursos naturais e funções ecológicas do solo reafirmam a necessidade de formas alternativas para suprir a necessidade da planta por nitrogênio (SHAZAD et al., 2013).

Diante deste cenário, buscam-se novas tecnologias para aumentar a produtividade e reduzir os custos de produção, tais como o uso de inoculantes

microbianos à base de bactérias fixadoras de N, denominadas diazotróficas. A promoção do crescimento e proteção de plantas pela inoculação de bactérias é proporcionada pela capacidade das mesmas em fixar biologicamente o nitrogênio atmosférico, solubilizar fosfato de cálcio, óxidos de zinco, sintetizar fitohormônios e sideróforos, realizar controle biológico (ação antagônica a determinados fungos e bactérias patogênicas) e induzir resistência sistêmica na planta hospedeira (HALLMANN et al., 1997, BABALOLA, 2010; HAYAT et al., 2010).

Dessa maneira, o objetivo deste experimento foi avaliar em viveiro o crescimento inicial de plantas de milho inoculadas com bactérias diazotróficas e selecionar com base nos resultados obtidos, os isolados bacterianos diazotróficos promotores de crescimento e desenvolvimento de plantas de milho para posterior avaliação a campo.

5.1.4. Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Florestal (UFV-CAF), situada no município de Florestal - região metropolitana de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais. O clima é classificado como tropical de altitude, com precipitação média anual de 1500 mm, sendo as estações do ano bem definidas entre verão (chuvoso) e inverno (seco). A temperatura varia entre 15° a 30° (CLIMA TEMPO, 2015). A área do município se estende a 194,9 Km² sendo o domínio vegetacional de transição entre Mata Atlântica e Cerrado, nas coordenadas de 19°53'20.23"S e 44°25'56.38"W, com altitude em torno de 800 m acima do nível do mar (IBGE, 2015). Conforme médias anuais climatológicas calculadas a partir de uma série de 30 anos de dados observados para Florestal, a precipitação média anual equivale a 1426,8 mm, a temperatura mínima média a 13,1°C e a temperatura máxima média a 28°C (INMET, 2015).

5.1.4.1. Área de Estudo

O experimento foi conduzido no viveiro (Figura 2) do Setor de Floricultura da UFV-CAF, que consistiu em um telado coberto com sombrite com 50% de sombreamento.



Figura 2. Viveiro do Setor de Floricultura da UFV-CAF, onde foi conduzido o experimento. Foto: Jaíza Cordeiro (10/10/2016)

5.1.4.2. Delineamento experimental

O ensaio de seleção bacteriana consistiu de 25 tratamentos (Tabela 1), sendo 24 isolados bacterianos, 12 oriundos de folha e raiz de *Dendrobium nobile* (SILVEIRA et al., 2014) e 12 oriundos de folha e raiz de *Epidendrum secundum* (SIMÕES et al., 2014), pré-selecionados em viveiro e um controle (sem inoculação), conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 6 repetições. A unidade experimental foi um vaso contendo 2 plantas de milho, totalizando 150 unidades experimentais.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos do experimento.

Tratamento	Estirpe ¹	Planta hospedeira	Tecido vegetal	Meio de cultura	Diluição
1	UFV2152	<i>Dendrobium nobile</i>	Raíz	LGI	2
2	UFV2252	<i>Dendrobium nobile</i>	Folha	LGI	2
3	UFV2164	<i>Dendrobium nobile</i>	Raíz	LGI-P	4
4	UFV2264	<i>Dendrobium nobile</i>	Folha	LGI-P	4
5	UFV2132	<i>Dendrobium nobile</i>	Raíz	NFb	2
6	UFV2232	<i>Dendrobium nobile</i>	Folha	NFb	2
7	UFV2223	<i>Dendrobium nobile</i>	Folha	JMVL	3
8	UFV2143	<i>Dendrobium nobile</i>	Raíz	JNFb	3
9	UFV2113	<i>Dendrobium nobile</i>	Raíz	JMV	3
10	UFV2242	<i>Dendrobium nobile</i>	Folha	JNFb	2
11	UFV2125	<i>Dendrobium nobile</i>	Raíz	JMVL	5
12	UFV2212	<i>Dendrobium nobile</i>	Folha	JMV	2
13	UFV3113	<i>Epidendrum secundum</i>	Raíz	JMV	3
14	UFV3212	<i>Epidendrum secundum</i>	Folha	JMV	2
15	UFV3123	<i>Epidendrum secundum</i>	Raíz	JMVL	3
16	UFV3222	<i>Epidendrum secundum</i>	Folha	JMVL	2
17	UFV3132	<i>Epidendrum secundum</i>	Raíz	NFb	2
18	UFV3232	<i>Epidendrum secundum</i>	Folha	NFb	2
19	UFV3143	<i>Epidendrum secundum</i>	Raíz	JNFb	3
20	UFV3242	<i>Epidendrum secundum</i>	Folha	JNFb	2
21	UFV3153	<i>Epidendrum secundum</i>	Raíz	LGI	3
22	UFV3252	<i>Epidendrum secundum</i>	Folha	LGI	2
23	UFV3163	<i>Epidendrum secundum</i>	Raíz	LGI-P	3
24	UFV3262	<i>Epidendrum secundum</i>	Folha	LGI-P	2
25	CONTROLE	-	-	-	-

Tabela 1: ¹Estirpe: especificação dos tratamentos em que cada estirpe foi nomeada seguindo o seguinte código: UFV ABCD: A – Nome científico da planta hospedeira. Exemplo: 1 – *Cymbidium* sp., 2 - *Dendrobium nobile*, 3 - *Epidendrum secundum*; B – Tecido vegetal usado no isolamento. Exemplo: 1 – Raíz, 2 – Folha; C – Meio de cultura usado no isolamento. Exemplo: 1 – JMV, 2 – JMVL, 3 – NFb, 4 – JNFb, 5 – LGI, 6 – LGI-P; D – Diluição; (SILVEIRA et al., 2014; SIMÕES et al., 2014).

5.1.4.3. Material vegetal

O genótipo avaliado foi o milho híbrido AG 1051 Agrocere, que devido a grande quantidade de massa verde produzida e alta digestibilidade, é apropriado para alimentação de ruminantes, para produção de grãos, como também possui bons resultados na produção de milho verde, pamonha e silagem. Por apresentar um sistema radicular bastante desenvolvido, pode ser plantado em várias épocas. Possui ciclo semiprecoce, florescimento em torno de 60-80 dias, dependendo das condições do ambiente; atinge a maturação fisiológica entre 133 a 139 dias e obtém ponto de colheita quando a umidade de grãos estiver em torno de 25%. As plantas apresentam porte alto, com altura média de 2,53 metros, boa qualidade do colmo e empalhamento excelente. O ponto de período de corte para ensilagem ocorre por volta de 110 – 120 dias, a faixa de padrão desejável de matéria seca ($t \cdot ha^{-1}$) é de 16-18 >15, nutrientes digestíveis totais N.D.T de 70,3 >65 da proteína bruta P.B, com 7,6 >7 digestibilidade excelente de análise em método NIRS. As recomendações de plantio são de 45–50 mil. ha^{-1} de plantas em função da época e altitude, em seu alto desempenho, pode produzir de 335 a 550 sacos de 25 kg de milho (AGROCERES, 2012).

5.1.4.4. Preparo do solo utilizado

O solo utilizado foi coletado próximo ao Secador da UFV-CAF, coordenadas geográficas 19°87'53.91"S e 44°42'26.55"W, o qual é classificado como horizonte subsuperficial de Latossolo Amarelo distrófico (EMBRAPA, 2013), cuja análise química apresentou: pH 4.1; (P 6.8, K 78) mg/dm^3 ; (Ca 0.6, Mg 0.3, Al 1.4, H+Al 7.59, SB 1.10, $CTC_{(t)}$ 2.50, $CTC_{(T)}$ 8,69) $cmol_c/dm^3$; V 13, m 56 %. Não foi realizada correção do solo.

5.1.4.5. Cultivo das colônias dos isolados bacterianos

As 24 bactérias foram cultivadas em 5 mL de meio líquido DYGS por 24 h, a 30°C e 120 rpm. Em seguida, foram colocados 100 μL em frascos de penicilina (Figura 3A) contendo meio específico isento de nitrogênio (tabela 1), semi-sólido para cada um dos isolados (DÖBEREINER et al., 1995). Os frascos foram mantidos em estufa bacteriológica a 30°C por 7 dias até a formação de uma película esbranquiçada, o que

confirma a capacidade de FBN dos microrganismos. Posteriormente, as bactérias foram cultivadas em meio líquido DYGS por 24 h, a 30°C e 120 rpm. Feito isso, 100 µL da solução contendo as bactérias foram colocados em placas de Petri (Figura 3B) contendo meio específico, sólido. As placas foram mantidas em estufa bacteriológica a 30°C por 7 dias e das colônias que ali cresceram uma foi selecionada para a obtenção do pré-inóculo.

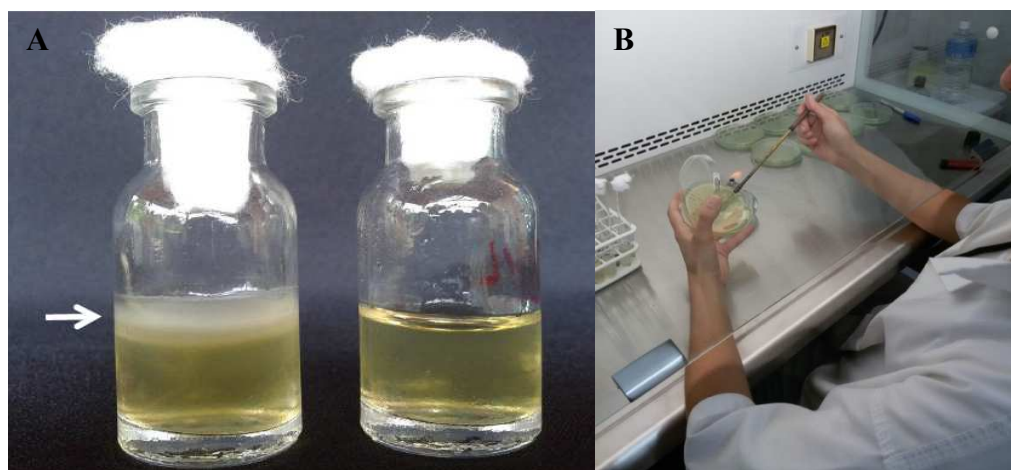


Figura 3. Película esbranquiçada formada confirmando a FBN (A). Transferência das bactérias para placas de Petri (B). A seta indica a película formada.

5.1.4.6. Obtenção do pré-inóculo e inóculo

Para obtenção do pré-inóculo, as bactérias foram crescidas em 15 mL de meio líquido DYGS por 24 h, a 30° C e 120 rpm (Figura 4). Em seguida, o pré-inóculo foi vertido em frascos de erlenmeyer contendo 200 mL de meio DYGS, totalizando 215 mL, suficiente para cobrir as 30 sementes de milho utilizadas em cada um dos 25 tratamentos. Os frascos permaneceram por 24 h sob agitação de 120 rpm, a 30°C, para obtenção do inóculo.



Figura 4. Bactérias em meio líquido DYGS por 24 h, a 30° C e 120 rpm.

5.1.4.7. Inoculação e implantação do experimento

O experimento foi implantado em 20/09/2015 em viveiro, no Setor de Floricultura da UFV-CAF. A inoculação foi realizada em frasco do tipo béquer pela imersão das sementes de milho híbrido AG 1051. Cada tratamento ficou imerso no meio bacteriano por 2 horas (Figura 5A), com posterior aplicação homogênea do mesmo meio bacteriano no substrato. O controle foi imerso em meio líquido DYGS autoclavado. O inóculo apresentou uma população estabelecida de 10^9 células/mL de inoculante para os tratamentos com inoculação. Posteriormente, foram semeadas 5 sementes do híbrido AG 1051 em cada vaso plástico de 0.7dm^3 de capacidade (Figura 5B e 5C). Nenhum dos 25 tratamentos (24 inoculados e 1 controle) recebeu adubação. O desbaste foi realizado 15 dias após a emergência das plântulas, mantendo-se duas plantas por vaso.



Figura 5. Procedimento de inoculação das sementes de milho (A). Disposição dos tratamentos no viveiro (B,C).

5.1.4.8. Coleta dos dados e análise das variáveis

Aos 30 dias após plantio, as plantas foram coletadas (Figura 6) para a mensuração das seguintes variáveis: altura da planta (ALT) - as mensurações das plantas foram feitas na retirada do experimento, utilizando régua de 30 cm da base da planta até a última folha expandida, para obtenção das alturas.; diâmetro do colmo (DC) - para análise dessa variável foi utilizado um paquímetro analógico e a mensuração foi efetuada na base do colmo; número de folhas (NF); matéria fresca da raiz (MFR); matéria fresca da parte aérea (MFPA); matéria fresca total (MFT); matéria seca da raiz (MSR); matéria seca da parte aérea (MSPA); matéria seca total (MST). Após a coleta das plantas, a massa fresca foi avaliada por pesagem em balança de precisão e, em seguida, levadas à estufa de circulação, forçada a 65° C, por 72 horas. Sendo pesadas novamente para obtenção de valores de massa seca.



Figura 6. Coleta do experimento e análises das variáveis.

5.1.4.9. Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do programa R e as médias foram comparadas pelo teste de TUKEY a 5 % de probabilidade (Tukey $P < 0,05$).

5.1.5. Resultados e Discussão

Foi verificado efeito positivo quanto à inoculação de bactérias diazotróficas isoladas de orquídea em sementes de milho (*Zea mays*) para as variáveis MSR e MST (Tabela 2). A estirpe bacteriana UFV-2212, isolada de folha de *Dendrobium nobile* (SILVEIRA, 2014) proporcionou o maior acúmulo de MSR e MST, com incrementos de 75% e 58% respectivamente, em relação ao tratamento controle. Embora não significativo estatisticamente, o isolado UFV-3143, oriundo de raiz de *Epidendrum secundum* (SIMÕES, 2014) propiciou aumentos de 37% e 34% nas variáveis acima mencionadas. Dados semelhantes foram encontrados por PERIN et al., (2003), ao verificar incrementos entre 2 a 28% na MFT em plantas de milho inoculadas com *Herbaspirillum seropedicae* e *Azospirillum brasilense*. Corroborando ainda com esse resultado LOZADA (2015) inoculando bactérias isoladas de lodo de esgoto de abatedouro de aves em sementes de milho observou que isolado bacteriano UFVL-164 incrementou 91 % na MST das plantas de milho comparativamente com o controle. O desenvolvimento da MSR, remete à eficiência das plantas em absorver

nutrientes e água do solo. Por conseguinte, isso será refletido, em uma maior biomassa área, melhor sanidade vegetal e progresso da produção na maioria dos casos.

Não foi observada diferença significativa para a variável MFPA, como encontrada para a MFR, MSR, quando realizada a inoculação com a estirpe UFV-2212 (Tabela 2). Isso indica que as plantas diferiram especialmente no incremento de raízes, certificando a hipótese da influência das BPCP no estímulo do desenvolvimento do sistema radicular nos estádios iniciais de crescimento das plantas promovendo consequentemente melhor absorção e utilização do N disponível e nutrientes em geral (SALA et al., 2007). O estímulo da promoção de raiz ou parte aérea na planta é determinado pelo balanço entre auxinas e citocininas. Quando há maior concentração de auxinas acarreta em indução do crescimento do sistema radicular, à proporção que, uma maior concentração de citocininas favorece o crescimento da parte aérea (SPAEPEN et al., 2009). As BPCP desempenham papel relevante no funcionamento das plantas, influenciando a fisiologia e o desenvolvimento do vegetal. A resposta positiva das plantas à inoculação com bactérias diazotróficas pode ser atribuída a diversos fatores, tais quais a capacidade das mesmas em fixar biologicamente o nitrogênio (ZAHARAN, 2001), produzir ou alterar as concentrações de fitohormônios, tais como auxinas, citocininas, giberelinas (TIEN et al., 1979; MOREIRA et al., 2010; VACHERON et al., 2013) e etileno (GLICK et al., 1995), solubilizar fosfato de cálcio, óxidos de zinco e ferro (RODRÍGUEZ et al., 2006), produzir sideróforos e enzimas, e induzir resistência sistêmica na planta hospedeira (VAN LOON, 2007). É conveniente ressaltar que o fomento de biossíntese de auxinas nas raízes das plantas é de intensa relevância, uma vez que este fitormônio estimula a divisão e o crescimento celular, ocasionando portanto aumento da área superficial de raízes, e consequentemente, a capacidade de absorção de água e nutrientes. Além disso, plantas inoculadas com BPCP têm maior tolerância ao déficit hídrico devido à eficiência do sistema radicular, já que esses microrganismos têm a capacidade de estimular a densidade e o comprimento de pêlos radiculares, bem como o surgimento de raízes laterais resultando em aumento na superfície de contato radicular OKON & LABANDERA GONZALEZ (1994).

Não foi constatado efeito significativo da inoculação sobre as variáveis ALT, DC e NF (Tabela 2). Resultados semelhantes para a altura da planta foi verificado por

LANA et al., (2012), avaliando as respostas da cultura do milho à inoculação com *Azospirillum* associada à adubação nitrogenada. DARTORA et al., 2013 também certificou que a altura de planta do milho não foi influenciada pela inoculação com *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, porém contrariamente ao resultado aqui mostrado a autora percebeu efeito positivo da inoculação sobre o diâmetro basal do colmo nas fases vegetativa e reprodutiva.

Foi possível perceber incrementos consideráveis na MST das plantas inoculadas com as estirpes UFV2212 (58 %) (Tabela 2). A análise da MST é muito relevante, uma vez que nos mostra especificamente a quantidade de massa acumulada pela cultura no decorrer do ciclo. Dessa maneira, a MST se mostra uma variável bastante expressiva por possibilitar inferir sobre a produtividade da cultura. Tendo em vista que neste experimento não houve a incorporação de nitrogênio, então, é cabível concluir que todo incremento obtido é responsável somente pela ação dos isolados UFV2212 e UFV3143 como fixadores de nitrogênio.

Talvez, a falta de atuação positiva no desenvolvimento das sementes de milho variedade AG1051, pelas demais bactérias inoculadas no mesmo possa estar relacionadas à vulnerabilidade desses microrganismos ao ambiente, devido a condições adversas como temperatura, umidade, competição com micro-organismos do solo, etc (GYANESHWAR et al., 2002; MOREIRA et al., 2010), bem como o genótipo da planta hospedeira (REIS et al., 2000; INIGUEZ et al., 2004) ou ainda com as características do solo, que podem estar associadas à ausência de resposta à inoculação (DOBBELAERE et al., 2002).

Tabela 2 – Médias estimadas das variáveis de crescimento inicial do milho inoculado com BPCP em viveiro.

Tratamentos	ALT	DC	NF	MFR	MFPA	MFT	MSR	MSPA	MST
	- cm -	- mm -	- unid -	----- g -----					
CONTROLE	30.85a	2.16a	4.41a	4.24ab	1.77a	6.01ab	0.73b	0.26ab	1.00bc
UFV2152	29.99a	2.33a	4.25a	4.72ab	1.62a	6.35ab	0.81b	0.25ab	1.07bc
UFV2252	33.71a	2.66a	4.41a	4.57ab	2.12a	6.69ab	0.71b	0.34a	1.05bc
UFV2164	32.04a	2.62a	4.66a	4.65ab	1.85a	6.51ab	0.91ab	0.30ab	1.21abc
UFV2264	31.34a	2.33a	4.4a	4.89ab	1.84a	6.74ab	0.81b	0.26ab	1.07bc
UFV2132	31.10a	2.29a	4.25a	4.76ab	1.80a	6.56ab	0.81b	0.26ab	1.07bc
UFV2232	30.35a	2.16a	4.25a	5.01ab	1.75a	6.76ab	0.85b	0.25ab	1.10bc
UFV2223	33.09a	2.50a	4.25a	5.77ab	1.86a	7.64ab	0.86ab	0.28ab	1.14abc
UFV2143	32.91a	2.45a	4.25a	5.57ab	1.86a	7.44ab	0.92ab	0.29ab	1.21abc
UFV2113	33.04a	2.50a	4.5a	4.95ab	1.89a	6.84ab	0.87ab	0.29ab	1.17abc
UFV2242	29.50a	2.29a	4.33a	4.20ab	1.61a	5.81ab	0.83b	0.25ab	1.09bc
UFV2125	31.81a	2.45a	4.33a	4.55ab	1.90a	6.46ab	0.84b	0.29ab	1.13abc
UFV2212	29.80a	2.54a	4.66a	6.07a	1.86a	7.94a	1.28a	0.29ab	1.58a
UFV3113	32.46a	2.12a	4.16a	3.61b	1.44a	5.05b	0.64b	0.23b	0.87c
UFV3212	33.39a	2.37a	4.16a	4.52ab	2.01a	6.53ab	0.74b	0.27ab	1.02bc
UFV3123	28.85a	2.37a	4.33a	4.64ab	1.75a	6.40ab	0.76b	0.25ab	1.01bc
UFV3222	35.06a	2.25a	4.16a	4.68ab	1.77a	6.46ab	0.78b	0.26ab	1.00bc
UFV3132	30.27a	2.54a	4.16a	4.38ab	1.56a	5.94ab	0.79 b	0.24ab	1.04bc
UFV3232	29.01a	2.54a	4.33a	4.49ab	1.77a	6.26ab	0.68b	0.24ab	0.93bc
UFV3143	33.30a	2.62a	4.50a	5.79ab	2.08a	7.88a	1.00ab	0.33ab	1.34ab
UFV3242	29.10a	2.54a	4.41a	5.26ab	1.68a	6.94ab	0.90ab	0.24ab	1.15abc
UFV3153	31.87a	2.54a	4.25a	5.63ab	1.95a	7.59ab	0.85b	0.28ab	1.13abc
UFV3252	31.50a	2.37a	4.25a	5.25ab	1.74a	6.99ab	0.92ab	0.26ab	1.14abc
UFV3163	34.62a	2.41a	4.5a	3.82ab	1.82a	5.65ab	0.66b	0.28ab	0.94bc
UFV3262	29.39a	2.54a	4.33a	4.68ab	1.69a	6.38ab	0.96ab	0.26ab	1.22abc
QMR	15,94	0,1	0,14	1,15	0,12	1,63	0,03	0,00	0,04
CV (%)	12,66	13,09	8,74	22,23	19,68	19,29	23,52	17,86	19,3

Tabela 2: Características de crescimento de *Zea mays* em resposta à inoculação de bactérias diazotróficas: ALT, altura da planta; DC, diâmetro do colmo; NF, número de folhas; MFR, matéria fresca da raiz; MFPA, matéria fresca da parte aérea; MSR, matéria seca da raiz; MSPA, matéria seca da parte aérea; QMR, quadrado médio do resíduo; CV coeficiente de variação.

5.1.6. Conclusões

A estirpe UFV-2212, isolada de folhas de *Dendrobium nobile*, apresentou as maiores médias para as variáveis de crescimento analisadas, em especial à matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST) de 1,28g e 1,58g respectivamente, o que corresponde a um aumento de 75% e 58% em relação ao tratamento controle.

Conclui-se, portanto, que bactérias diazotróficas que habitam folhas de *Dendrobium nobile* têm potencial para promoção do crescimento e desenvolvimento inicial de plantas de milho, podendo ser utilizada como alternativa para estimular o desenvolvimento vegetal e enriquecimento de inoculantes e ou biofertilizantes.

5.1.7. Bibliografia

ALVARENGA, R. C.; COBUCCI, T.; KLUTHCOUSKI, J.; WRUCK, F. J.; CRUZ, J. C.; GONTIJO NETO, M. M. **A cultura do milho na integração lavoura-pecuária**. Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

AGROCERES. Sementes Agrocere. **Milho híbrido AG1051**. Disponível em: <http://www.sementesagrocere.com.br/?page_id=426>. Acessado em: 20 Jan. 2016.

BABALOLA, O. O. **Beneficial bacteria of agricultural importance**. Biotechnology letters, v. 32, n. 11, p. 1559-1570, 2010.

BULL, L. T. Nutrição mineral do milho. In: Bull, L. T.; Cantarella, H. (ed). *Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: Potafos, p.63-131, 1996.

CLIMA TEMPO. **Características Climáticas de Florestal – MG**. Disponível em: <<http://www.climatempo.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2015.

DARTORA, J., GUIMARÃES, V. F., MARINI, D., SANDER, G. **Nitrogen fertilization associated to inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* in the maize**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 17, p. 1023-1029. 2013.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. **Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize**. Biology and Fertility of Soils, v.36, p.284-297, 2002.

DÖBEREINER, J. **Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions**. Soil Biology and Biochemistry, v.29, p. 771-774, 1995.

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 66p., 1995.

GARCIA, J. C., MATTOSO, M. J., DUARTE, J. D. O., CRUZ, J. C. **Aspectos econômicos da produção e utilização do milho**. Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica. 2006.

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

GYANNESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. **Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants**. Plant Soil, v.245, p.83-93, 2002.

INIGUEZ, A. L.; DONG, Y; TRIPLETT, E. W. **Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae* 342**. Molecular Plant-Microbe Interactions, v.17, p.1078-1085, 2004.

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

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. **Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review**. Annals of Microbiology, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2015. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201504.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201504.pdf)>. Acesso em: 01 Ago. 2015.

INMET – INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – **Estações automáticas – Florestal/MG**. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/sonabra/pg_dspDadosCodigo_sim.php?QTUzNQ==>. Acesso em: 01 Abr. 2016.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. H. **Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize**. Revista Ceres, v.59, p.399-405, 2012.

LOZADA, J. A. R. **Prospecção de bactérias do lodo de esgoto de abatedouro de aves com potencial degradador de substâncias orgânicas e promotor do crescimento de plantas**. Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários. Universidade Federal de Viçosa, Campus Florestal, 77p, 2015.

MACHADO, A. T.; SODEK, L., DÖBEREINER, J.; REIS, V. M. **Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 33, n. 6, p. 961-970, 1998.

MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K. da; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. de. **Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações**. Comunicata Scientiae, v.1, p.74-99, 2010.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. **Agronomic application of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field incubation.** Soil Biology and Biochemistry, v.26, p.1591- 1601, 1994.

PERIN, A.; GUERRA, J.G.M.; TEIXEIRA, M.G. **Cobertura do solo e acumulação de nutrientes pelo amendoim forrageiro.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.38, p.791-796, 2003.

RAO, T. A.; LAL MOHAN, R. S.; CHAKRABORTY, S. K.; MURTY, V. S.; NAIR, K. V.; VIVEKANANDAN, E., RAJE, S. G. **Stock assessment of sciaenid resources of India.** *Indian Journal of Fisheries*, v. 39, p. 85-103, 1992.

REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L.; DÖBEREINER, J. **Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees.** Critical Reviews in Plant Sciences, v.19, p.227-247, 2000.

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

SALA, V. M. R.; CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, J. G.; SILVEIRA, A. P. D. **Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo.** Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v.42, n.6, p.833-842, 2007.

SHAHZAD, S. M.; ARIF, M. S.; RIAZ, M.; IQBAL, Z.; ASHRAF, M. **PGPR with varied ACC-deaminase activity induced different growth and yield response in maize (*Zea mays* L.) under fertilized conditions.** European Journal of Soil Biology, v. 57, p. 27-34, 2013.

SILVEIRA, K. C.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. **Isolamento, caracterização e seleção de bactérias promotoras de crescimento na orquídea *Dendrobium nobile*.** In: Fertbio, Araxá, 2014.

SIMÕES, M. P.; ANDRADE, G. V. S.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. **Solubilização de óxido de zinco e fosfato de cálcio por bactérias diazotróficas isoladas da orquídea *Epidendrum secundum*.** In: Fertbio, Araxá, 2014.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. **Plant growth-promoting actions of rhizobacteria.** Advances in botanical research, v. 51, p. 283-320, 2009.

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. **Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet**

(Pennisetum americanum L.). Applied and Environmental Microbiology, v.37, p.1016-1024, 1979.

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

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

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

5.2. Desempenho agrônômico do milho para produção de silagem e grãos em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas em campo.

5.2.1. Resumo

CORDEIRO, Jaíza Ellen Borges, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2017. **Desempenho agrônômico do milho para produção de silagem e grãos em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas em campo.** Orientadora: Lílian Estrela Borges Baldotto. Coorientadores: Marihus Altoé Baldotto e Marcos Paiva del Giudice.

Existe elevado interesse pelo desenvolvimento de biotecnologias eficazes na redução do consumo de fertilizantes nitrogenados, na utilização de práticas de manejo agrícola mais sustentáveis e na expansão da produtividade. Há, portanto, grande interesse pela inoculação com bactérias diazotróficas, que possuem a capacidade de fixação de N atmosférico, deixando-o disponível às plantas, como alternativa que apresenta grande potencial para suprir a dependência desse insumo. Dessa maneira, objetivou-se com o presente trabalho avaliar em condições de campo a produtividade do milho destinado à produção de silagem e grãos em função da inoculação com BPCP isoladas de orquídea e lodo de esgoto de abatedouro de aves. O experimento consistiu na aplicação de nove bactérias diazotróficas, eficientes em promover o crescimento do milho em condições de viveiro, em campo. Houve correção do solo utilizado conforme a recomendação, com base nos resultados da análise do solo e, a inoculação se deu pelo recobrimento das sementes de milho por duas horas com o meio bacteriano. O líquido restante foi aplicado uniformemente nos sulcos logo após a deposição das sementes em cada repetição. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com dez tratamentos e cinco repetições. Os dados correspondentes ao efeito da inoculação foram submetidos à análise de variância, e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os resultados permitiram concluir que a inoculação com BPCP no milho destinado à produção de silagem não influenciou as variáveis analisadas. No entanto, embora não tenha sido detectada diferença estatística para a variável teor de proteína bruta, o tratamento inoculado com a bactéria UFVL-162 exibiu incremento de 8,7 % em relação à testemunha. Quanto às análises do milho atribuído à produção de grãos não foram encontradas respostas agrônômicas favoráveis sobre as mesmas. Conclui-se,

portanto, que a inoculação com BPCP, nas condições edafoclimáticas em que o trabalho foi realizado, não proporcionou resultados positivos à cultura do milho, nem incrementos na produtividade dos grãos.

Palavras chave: *Zea mays* L., bactérias diazotróficas, fixação biológica de nitrogênio.

5.2.2. Abstract

CORDEIRO, Jaíza Ellen Borges, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2017. **Agronomic performance of corn silage and grain yield in response to diazotrophic bacteria inoculation.** Adviser: Lílian Estrela Borges Baldotto. Co-Advisers: Maríhus Altoé Baldotto and Marcos Paiva del Giudice.

There is a strong interest in the development of effective biotechnologies in reducing nitrogen fertilizer consumption, using more sustainable agricultural management practices and increasing productivity. Thus, there is a great interest in inoculation with diazotrophic bacteria, which have the capacity for fixing atmospheric N in the soil, leaving it available to plants, as an alternative that has a potential to supply the dependence of this input. The objective of this work was to evaluate corn yield, in field conditions, for silage and grains after inoculation with BPCP, isolated from orchid and poultry slaughterhouse sewage sludge. The experiment consisted in the field application, of nine diazotrophic bacteria, efficient in promoting corn growth under nursery conditions. The inoculation was done by coating the corn seeds for two hours with the bacterial liquid. The remaining liquid was evenly applied to the grooves shortly after seed sowing on each replicate. The experimental was a randomized block design, with ten treatments and five replications. The data corresponding to the effect of the inoculation in experiment were submitted to analysis of variance, and the means of the treatments were compared by Tukey test, at 5% probability. The results shows no agronomic responses in corn for inoculation with BPCP in grain and silage production.

Keywords: *Zea mays* L., diazotrophic bacteria, biological nitrogen fixation.

5.2.3. Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal mais cultivado em todo o mundo, e o de maior importância no mercado econômico brasileiro devido às suas diversas formas de utilização, na alimentação humana na forma de farinhas, óleos e flocos; na animal por meio da produção de rações e até na indústria de alta tecnologia, com a produção de biocombustível. Além disso, é a cultura padrão para ensilagem, pela tradição no cultivo, pela elevada produtividade, pela estabilidade de produção, pelo bom valor nutricional e concentração de energia (NEUMANN, 2006; FORNASIERI FILHO, 2007; CRUZ et al., 2011; CONAB, 2013; JUN-HONG & BO, 2016; USDA, 2016).

No entanto, apesar da relevância da cultura e do mercado em expansão devido ao aumento populacional, sua produtividade ainda é considerada baixa, uma vez que há documentado na literatura que o potencial produtivo da cultura é de 19.113 kg.ha⁻¹ (ASSIS et al., 2006) e a produtividade média brasileira está em torno 5.390 kg.ha⁻¹, na safra de 2015/2016, valor consideravelmente baixo tendo em vista os dados da capacidade produtiva do milho (CONAB, 2016).

Alguns fatores como a fertilidade do solo e o nível tecnológico implementado no uso de insumos influenciam diretamente a produção, sendo necessária a adição de doses massivas de fertilizantes nitrogenados para garantir a produtividade da cultura (MAJEROWICZ et al., 2002; DARTORA et al., 2013; FRAZÃO et al., 2014; MUNIZ, 2014). A utilização de adubos nitrogenados tem se tornado uma prática dispendiosa, pois os custos para obtenção dos mesmos estão cada vez mais elevados, onerando a rentabilidade da lavoura (PÖTTKER & WIETHÖLTER, 2004; SILVA et al., 2005; DIAS & FERNANDES, 2006; SANTOS et al., 2013; PEREIRA, 2014). Além disso, há diversos reflexos negativos nos ecossistemas gerados pela fabricação destes fertilizantes, devido à alta demanda energética do processo de fabricação e esgotamento de jazidas naturais (RICHARDSON, 2001; MALAJOVICH, 2011; MARENGONI et al., 2013; ROCHA et al., 2013; e-CYCLE, 2014).

Nesse sentido, existe elevado interesse pelo desenvolvimento de biotecnologias eficazes na redução do consumo de fertilizantes nitrogenados, na utilização de práticas de manejo agrícola mais sustentáveis e na expansão da produtividade (HUNGRIA, 2011; SMITH & KURTZ, 2015). A inoculação com

bactérias diazotróficas que possuem a capacidade de fixação de N atmosférico no solo, deixando-o disponível as plantas é uma possibilidade que apresenta grande potencial para suprir a dependência desse insumo (HUNGRIA, 2011). Essas BPCP são capazes de promover o crescimento e incrementar a produtividade de plantas, por estimular a produção de fitormônios, como a auxina, capaz de promover o desenvolvimento do sistema radicular, melhorando a capacidade de uso de água e nutrientes, sobretudo em situações de seca ou salinidade (TIEN et al., 1979).

Pensando nisso, objetivou-se com o presente trabalho avaliar, em condições de campo, o desempenho de plantas de milho inoculadas com bactérias promotoras de crescimento de plantas.

5.2.4. Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa - *Campus* Florestal (UFV-CAF), situada no município de Florestal - região metropolitana de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais. O clima é classificado como tropical de altitude, com precipitação média anual de 1500 mm, sendo as estações do ano bem definidas entre verão (chuvoso) e inverno (seco). A temperatura varia entre 15° a 30° (CLIMA TEMPO, 2015). A área do município se estende a 194,9 Km² sendo o domínio vegetacional de transição entre Mata Atlântica e Cerrado, nas coordenadas de 19°53'20.23"S e 44°25'56.38"W, com altitude em torno de 800 m acima do nível do mar (IBGE, 2015). Conforme médias anuais climatológicas calculadas a partir de uma série de 30 anos de dados observados para Florestal, a precipitação média anual equivale a 1426,8 mm, a temperatura mínima média a 13,1°C e a temperatura máxima média a 28°C (INMET, 2015). Os dados de precipitação pluviométrica e as temperaturas médias mensais incidentes durante a realização do experimento foram obtidos pelo site do INMET (2016) e são apresentados na Figura 7:

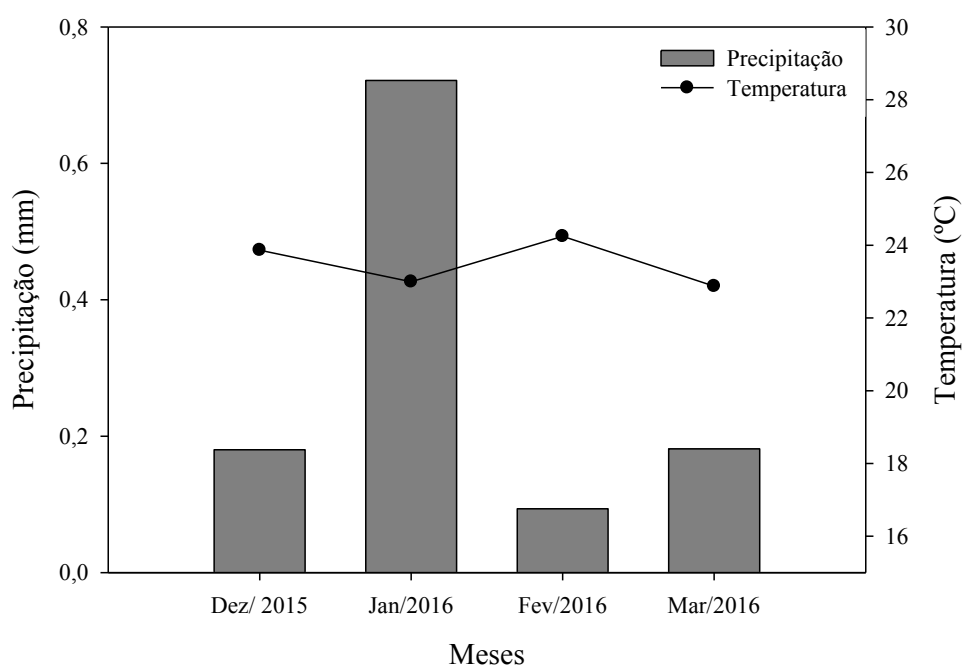


Figura 7. Gráfico da Precipitação pluviométrica acumulada e temperatura média mensal no período de dezembro/2015 a março/2016.

5.2.4.1. Área de Estudo

O experimento foi conduzido em campo na safra verão 2015/2016 no Setor de Horticultura da UFV-CAF, coordenadas de 19°87'43.08"S e 44°41'76.32" (Figura 8). O ensaio de campo foi instalado numa área manejada, com cultivo anual anterior de milho (*Zea mays* L), e a condução ocorreu entre os meses de dezembro/2015 a março/2016.



Figura 8. Imagem de satélite do Setor de Horticultura da UFV-CAF, área na qual o experimento foi conduzido. A seta indica o experimento instalado.

5.2.4.2. Delineamento experimental

O ensaio de seleção bacteriana consistiu de 10 tratamentos, sendo 9 isolados bacterianos: três procedentes de *Cymbidium sp.* (GONTIJO, et al., 2013), um de *Dendrobium nobile* (SILVEIRA, 2014), um *Epidendrum secundum* (SIMÕES et al., 2014) e quatro de lodo de esgoto de abatedouro de aves (LOZADA, 2015), todos previamente avaliados em viveiro como potenciais promotores de crescimento de plantas de milho e um controle (sem inoculação) (Tabela 3). O experimento foi conduzido em delineamento em blocos ao acaso (DBC), com 5 repetições. Cada parcela foi composta por seis linhas de 6 metros de comprimento com espaçamento de

0,90 m entre linhas e 2 m entre os blocos. A área útil da parcela foi de 13, 5 m²excluído a 1^a e a 6^a linhas e a bordadura de 0,5 m no início e no final da parcela (Figura 9).

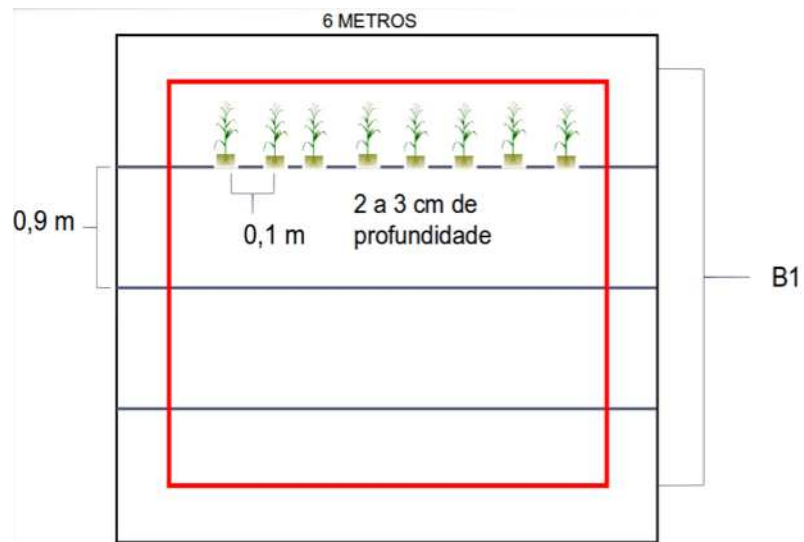


Figura 9. Desenho experimental do estudo. Croqui da parcela 1 do bloco 1 (B1).

Tabela 3. Descrição dos tratamentos do experimento.

Tratamento	Estirpe ¹	Planta hospedeira/ Origem	Tecido vegetal	Meio de cultura	Diluição
1	CONTROLE	-	-	-	-
2	UFV1214	<i>Cymbidium sp.</i>	Folha	JMV	4
3	UFV1154	<i>Cymbidium sp.</i>	Raiz	LGI	4
4	UFV1144	<i>Cymbidium sp.</i>	Raiz	JNFb	4
5	UFV2212	<i>Dendrobium nobile</i>	Folha	JMV	2
6	UFV3143	<i>Epidendrum secundum</i>	Raiz	JNFb	3
7	UFVL-162	Lodo	-	JMV	6
8	UFVL-163	Lodo	-	JMV	6
9	UFVL-164	Lodo	-	JMV	6
10	LSOF7	Lodo	-	JMV	-

¹Estirpe: especificação dos tratamentos em que cada estirpe foi nomeada seguindo o seguinte código: UFV ABCD: A – Nome científico da planta hospedeira. Exemplo: 1 – *Cymbidium sp.*, 2 – *Dendrobium nobile*, 3 – *Epidendrum secundum*; B – Tecido vegetal usado no isolamento. Exemplo: 1 – Raiz, 2 – Folha; C – Meio de cultura usado no isolamento. Exemplo: 1 – JMV, 2 – JMV, 3 – NFb, 4 – JNFb, 5 – LGI, 6 – LGI-P; D – Diluição; (SILVEIRA et al., 2014; SIMÕES et al., 2014; GONTIJO et al., 2013); ou foi nomeada, seguindo-se o código: UFV L-ABC, onde UFV = Universidade Federal de Viçosa; L = Lodo; A = meio de cultura usado no isolamento (1= JMV, 2 = JMV, 3 = NFb, 4 = JNFb, 5 = LGI, 6 = LGI-P); B = diluição; C = número de ordem do isolado na coleção; ou ainda, foi nomeada seguindo o código: UFV LSOF-X; onde UFV = Universidade Federal de Viçosa, L = Lodo, SOF = solubilizadora de fosfato, X = número de ordem do isolado na coleção (LOZADA, 2015).

5.2.4.2. Material vegetal

A planta teste utilizada foi a cultivar de milho 2B655HX, um híbrido precoce que apresenta boa tolerância ao estresse hídrico e a insetos da ordem lepidóptera. Possui potencial produtivo para grãos e silagem tanto na safra como safrinha em sistemas de produção de médio investimento. Possui como características principais: grãos semiduros, vermelho-alaranjados, florescimento 840 GDU (*Growing Degree Units*), altura média da planta de 2,40 a 2,60 metros com finalidade de uso na produção de grãos e silagem, época de plantio de agosto a março. A população normal estimada de plantas no período de safra é de 50 - 60.000 e safrinha: 50 - 55.000 (BIOMATRIX, 2016).

5.2.4.3. Preparo do solo utilizado

O solo da área experimental foi classificado como horizonte subsuperficial de Latossolo Vermelho distrófico (EMBRAPA, 2013). Foi realizada amostragem e

análise do solo, para que fossem feitas a sua correção e fertilização adequadas (Ribeiro et al., 1999). A análise química do solo foi realizada no Laboratório de Solos da UFV-CAF e apresentou: pH 5.07; (P 8.8, K 134) mg/dm³; (Ca 2.83, Mg 0.62, Al 0.09, H+Al 5.32; SB 3.80, CTC_(t) 3.89, CTC_(T) 9.12) cmol_c /dm³; V 42, m 2 %. Para correção do solo foi adotada a prática de calagem, sendo aplicados 1,5 t.ha⁻¹ de calcário dolomítico 30 dias antes da semeadura e a adubação corretiva foi feita 15 dias antes do plantio, sendo aplicados 300 Kg.ha⁻¹ de 8-28-16. O solo foi previamente preparado por meio de aração, gradagem e abertura dos sulcos. O sistema de irrigação utilizado foi de aspersão.

5.2.4.4. Cultivo das colônias dos isolados bacterianos

As bactérias utilizadas foram provenientes da coleção de bactérias do Setor de Floricultura da UFV-CAF (GONTIJO et al., 2013; SILVEIRA et al., 2014; SIMÕES et al., 2014; LOZADA, 2015), as quais foram isoladas de folha e raiz de plantas de orquídea e lodo de esgoto de abatedouro de aves (Tabela 3). As 9 bactérias foram cultivadas em 5 mL de meio líquido DYGS por 24 h, a 30°C e 120 rpm. Em seguida, foram colocados 100 µL em frascos de penicilina contendo meio específico semi-sólido para cada uma das bactérias (tabela 2). Os frascos ficaram em estufa bacteriológica a 30 °C por 7 dias até a formação de uma película esbranquiçada, o que confirma a capacidade FBN dos microrganismos. Posteriormente, as bactérias foram cultivadas em meio líquido DYGS por 24 h, a 30 °C e 120 rpm. Feito isso, 100 µL da solução contendo as bactérias foram colocados em placas de Petri contendo meio específico, sólido. As placas ficaram em estufa bacteriológica a 30°C por 7 dias e das colônias que ali crescerem uma foi selecionada para a obtenção do pré-inóculo.

5.2.4.5. Obtenção do pré-inóculo e inóculo

Para obtenção do pré-inóculo, as bactérias foram crescidas em 5 mL de meio líquido DYGS por 24 h, a 30 °C e 120 rpm. Em seguida, o pré-inóculo foi vertido em frascos de erlenmeyer contendo 1500 mL de meio DYGS, totalizando 1505 mL, suficiente para cobrir as 2400 sementes de milho utilizadas em cada um dos 10

tratamentos. Os frascos permaneceram por 24 h sob agitação de 120 rpm, a 30°C, para obtenção do inóculo.

5.2.4.6. Inoculação e implantação do experimento

O experimento foi implantado em 11/12/2015 em campo, no Setor de Horticultura da UFV-CAF. A inoculação foi realizada antes da semeadura, em frascos de plásticos com capacidade de 1 litro, pela imersão das sementes do milho híbrido 2B655HX no meio bacteriano. Cada tratamento ficou imerso no meio bacteriano por 2 horas (Figura 10), com posterior aplicação homogênea do mesmo meio bacteriano no solo. O controle foi imerso em meio líquido DYGS autoclavado. A contagem das bactérias presentes no meio de cultura foi realizada por meio da técnica do Número Mais Provável (Döbereiner et al., 1995), utilizando Tabela de McCrady para três repetições por diluição. Posteriormente, foram plantadas 480 sementes do híbrido milho 2B655HX em cada parcela com área de 3,6 x 6,0 metros, totalizando 24.000 sementes. A semeadura foi realizada manualmente. Não houve necessidade de desbaste após a emergência das plântulas.



Figura 10. Inoculação das sementes de milho com BPCP para instalação do experimento em campo.

5.2.4.7. Tratos culturais

Durante a condução do experimento, no dia 21/12/2015 foi realizada uma aplicação de herbicidas, utilizando-se uma mistura de herbicidas seletivos para a cultura do milho com os ingredientes ativos atrazine ($5,0 \text{ L ha}^{-1}$) e nicosulfuron ($1,5 \text{ L ha}^{-1}$). A adubação de cobertura foi realizada entre os estádios V4 e V6 utilizando como

fonte de N e K o adubo 20-0-20 na proporção de 300 kg. ha⁻¹. Foram realizadas, também, duas aplicações de inseticida, aos 18 e 30 dias após a semeadura utilizando-se produto contendo tiametoxam + lambdacialotrina como ingredientes ativos (0,25 L ha⁻¹). Os tratamentos culturais foram realizados de forma semelhante ao que é praticado na UFV-CAF e agricultores da região, buscando aproximar o máximo possível do produtor rural.

5.2.4.8. Coleta dos dados e análise das variáveis

O inóculo apresentou uma população estabelecida de 10⁸ células/mL para os tratamentos com inoculação.

Aos dias 11 de março de 2016 (90 dias após plantio e 85 dias após a emergência) foi realizada a coleta, quando a planta de milho apresentava aproximadamente 35% de teor de matéria seca (milho destinado à produção de silagem) (Figura 11A), na área útil da parcela, excluído a 1^a e a 6^a linhas e a bordadura de 0,5 m no início e no final da parcela. Foram escolhidas ao acaso 5 plantas por parcela, totalizando 250 plantas, destinadas à produção de silagem, as quais foram coletadas manualmente para a mensuração das seguintes variáveis: altura da planta (ALT); altura de inserção das espigas (ALTE), as variáveis altura foram realizadas com auxílio de uma trena de 30 metros; diâmetro do colmo (DC), para análise dessa variável foi utilizado um paquímetro analógico e a mensuração foi efetuada na base do colmo; matéria fresca da parte aérea (MFPA); matéria seca da parte aérea (MSPA), obtidas pela secagem em estufa sob ventilação forçada de ar a 65 °C por 72 horas e posterior pesagem em balança de precisão.

Após a secagem, as folhas de milho foram moídas em moinho do tipo Wiley acoplado a peneiras de 0,25 mm (60 mesh). Em seguida, o pó obtido foi submetido à digestão sulfúrica combinada com peróxido de hidrogênio e foram determinados os teores totais de N e P. Para N, foi utilizado o método de Kjeldahl. O teor de P foi obtido por espectrofotometria de absorção molecular (colorimetria, no comprimento de onda de 725 nm), após reação com molibdato de amônio e ácido ascórbico. Os conteúdos de N (CN) e P (CP) foram calculados considerando a massa da matéria seca da parte aérea e o teor do nutriente correspondente. A proteína bruta total (PB) foi determinada

multiplicando-se o total de nitrogênio (N) por 6,5. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Solos da UFV-CAF, com três repetições por tratamento.

Aos 140 dias após plantio (135 dias após a emergência), foi efetuada a segunda coleta, quando os grãos apresentavam aproximadamente 18% de umidade (milho destinado à produção de grãos) (Figura 11B), em 3,0 m² da área útil da parcela, excluído a 1^a e a 6^a linhas e a bordadura de 0,5 m no início e no final da parcela. Foram contadas as plantas existentes (NP) em 3,0 m² da área útil e amostradas manualmente todas as espigas (NE) contidas nesse espaço para contagem. Após, foram escolhidas ao acaso 5 dessas espigas coletadas por tratamento para a determinação do número de fileiras de grãos por espiga (NFE); número de grãos por fileira (NGF); número de grãos por espiga (NTG); peso das 5 espigas sem palha (P(5)); medição do comprimento das espigas, distância entre o primeiro e o 28 último grão da linha mais longa (CE); massa de 1000 grãos (P(1000)), pesagem de uma subamostra de 250 grãos por parcela, em balança de precisão (0,001 g), extrapolando-se para mil grãos e corrigindo-se para 13% de umidade – b.u.; teor de nitrogênio no grão (CN), a análise de nitrogênio (N) foi realizada pelo método Kjeldahl no Laboratório de Análise de Solos da UFV-CAF, com três repetições por tratamento, após a digestão sulfúrica dos grãos. Os conteúdos de N foram estimados por meio da multiplicação da matéria seca total (MST) pelo teor de nitrogênio; produtividade do milho (PRD), estimada pela multiplicação entre o peso médio de grãos das espigas selecionadas e a população de plantas da área (PRD); as espigas foram debulhadas manualmente e pesadas. Os resultados obtidos foram transformados para kg.ha⁻¹, corrigindo-se a umidade para 13% em base úmida para determinação da produtividade (HAUAGGE, 2015).



Figura 11. Milho destinado à produção de silagem (A). Milho destinado à produção de grãos (B).

5.2.4.9. Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do programa R e as médias foram comparadas pelo teste de TUKEY a 5 % de probabilidade (Tukey $P < 0,05$).

5.2.5. Resultados e discussão

De acordo com os dados climáticos (Figura 7) foi possível perceber que durante a condução do experimento, a temperatura do ar foi adequada para o desenvolvimento da cultura do milho, uma vez que a cultura possui maiores rendimentos em temperaturas moderadas, entre 18 e 25 °C da emergência à floração, sendo a melhor temperatura em torno de 21 °C (MALDANER et al. 2014). Semelhantemente, os dados relacionados à precipitação pluviométrica também se mostraram satisfatórios, havendo disponibilidade hídrica necessária para o crescimento e desenvolvimento das plantas, mineralização da matéria orgânica do solo e aproveitamento do nitrogênio pelas plantas. O milho é uma cultura muito exigente em água, sendo assim, o estresse hídrico decorrente da má distribuição da precipitação pluvial pode ocasionar danos em todas as fases, desde o crescimento vegetativo ao enchimento dos grãos, devido à limitação do desenvolvimento da espiga, pela diminuição na taxa fotossintética, restrição da translocação de fotossimilados para os grãos, podendo também afetar a resposta da

planta ao nitrogênio (FANCELLI, 2000; DOURADO-NETO, et al., 2004; CRUZ et al., 2010; BRITO et al., 2013).

5.2.5.1. Milho destinado à produção de silagem

Este trabalho buscou avaliar o desempenho agrônômico, a campo, do híbrido 2B655HX de milho destinado à produção de silagem, inoculado com BPCP.

Não houve efeito positivo da inoculação com BPCP para o desenvolvimento do milho destinado à produção de silagem, nas variáveis ALT, ALTE, DC, MFPA, MSPA, CN e PB (Tabela 4). Dessa maneira, para tais características o tratamento controle apresentou as maiores médias.

A altura de planta foi pouco influenciada pela inoculação com BPCP na fase de avaliação (Tabela 4), tendo sido observada a menor média (234,76 cm) no tratamento inoculado com a BPCP bactéria UFVL-162, o que confere uma desenvoltura 10,45 % menor que a do tratamento controle com 262,16 cm. LANA et al., (2012) e LIBÓRIO et al., (2016) também não verificaram efeito positivo da inoculação sobre a altura de planta avaliando as respostas da cultura do milho à inoculação com *Azospirillum* associada à adubação nitrogenada. Esse resultado é considerado positivo, uma vez que, quanto maior a estatura das plantas, maior o índice de tombamento (LIBÓRIO et al., 2016).

Não foi constatado efeito da inoculação para a altura de inserção da espiga (ALTE) (Tabela 4), onde os tratamentos com as bactérias UFV1214 e UFV3143 apontaram as menores médias, 15 % e 17 % respectivamente em relação à testemunha. De acordo com ALVARENGA et al., (2006) a ALTE é uma variável que reflete diretamente na colheita, uma vez que a regulagem mais alta da plataforma reduz o risco de embuchamento.

O tratamento com BPCP não proporcionou incrementos no diâmetro do colmo (DC) (Tabela 4), o qual é apontado na literatura como característica morfológica importante por estar relacionada ao percentual de acamamento e quebramento de planta na cultura do milho, que pode resultar em perdas significativas na produção (KAPPES et al., 2013ab). Ademais, conforme explicitado por KAPPES et al., (2011) o diâmetro de colmo está diretamente associado à obtenção de alta produtividade, em

razão de que quanto maior o seu diâmetro, maior a capacidade da planta em armazenar fotoassimilados que contribuirão com o enchimento dos grãos.

Neste estudo, as variáveis matéria fresca da parte aérea (MFPA), matéria seca da parte aérea (MSPA), conteúdo de nitrogênio (CN), conteúdo de fósforo (CP) e proteína bruta total (PB) (Tabela 4), também não foram influenciadas pela inoculação com BPCP, não havendo diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos com e sem inoculação. A ausência de respostas à inoculação de sementes de milho com BPCP também são relatadas na literatura. VERONA et al., (2010) verificaram que não houve diferença significativa para as variáveis altura, massa seca de parte aérea e massa seca de raiz de plantas de milho inoculadas, na presença ou não de fitorreguladores. Da mesma forma, a aplicação de diferentes doses de inoculante à base de *Azospirillum* em sementes de milho não resultou em incrementos na massa fresca do sistema radicular e tampouco no acúmulo de massa seca da parte aérea (ROBERTO et al., 2010). FARINELLI et al., (2012) obtiveram resultados similares, não verificando diferenças significativas no diâmetro de colmo entre plantas de milho com e sem inoculação com *Azospirillum brasiliense*.

Embora não tenha apresentado diferença estatística significativa, o tratamento inoculado com a bactéria UFVL-162 exibiu incremento de 8,7% em relação à testemunha para a variável teor de proteína bruta (Tabela 4). O nível protéico da forragem ou silagem de milho, normalmente varia de 6% a 9%. O tratamento inoculado com a bactéria UFVL-162 apresentou teor médio de 6,64%, o que corresponde com a média apresentada na literatura. Essa característica pode ser considerada um ponto positivo para a silagem, por promover maior economia na utilização de fontes protéicas na formulação de dietas para ruminantes (CRUZ, et al. 2016).

Diversos estudos apontam sobre os benefícios da inoculação BPCP, dentre elas com *Azospirillum* no desenvolvimento das plantas (OKON & LABANDERA-GONZÁLEZ, 1994; SALAMONE & DÖBEREINER, 1996; HUNGRIA et al. 2010). Entretanto, o efeito desta prática não foi verificado neste estudo, nem mesmo quanto ao desenvolvimento da parte aérea, o qual encontra se diretamente relacionado ao bom desempenho do sistema radicular, cujo crescimento é relatado na literatura em decorrência da produção de fitohormônios por essas bactérias (SALAMONE &

DÖBEREINER, 1996). De acordo com esses autores, a inoculação modifica a morfologia do sistema radicular das plantas, aumentando não apenas o número de radicelas, mas também, o diâmetro das raízes laterais e adventícias acarretando em melhor absorção de nutrientes e água e, conseqüentemente benefícios para a parte aérea.

Como a finalidade dessa primeira coleta do estudo foi análise da planta de milho destinada à produção de silagem, algumas características como a elevada produção de matéria seca, as altas concentrações de proteína bruta e energia (alta digestibilidade) e o elevado teor de matéria seca com baixa concentração de fibra na colheita manifestam grande relevância por se tratar de características que favorecem a fermentação (PAZIANI, 2009). Nesse contexto, o tratamento com BPCP não proporcionou incrementos satisfatórios e consideráveis para tal destinação na planta.

5.2.5.2. Milho destinado à produção de grãos

Este trabalho buscou avaliar o desempenho agrônômico, a campo, do híbrido 2B655HX de milho destinado à produção de grãos, inoculado com BPCP.

Em relação ao número de plantas na fração amostrada da área útil da parcela foi observada menor média (30 ud) no tratamento inoculado com a bactéria UFV1214 e a maior média (37 ud) foi verificada pela inoculação efetuada com a bactéria UFVL-163 (tabela 5). Entretanto, não é pertinente associar esse resultado ao efeito positivo das BPCP quanto à sobrevivência das plantas ou melhor taxa de germinação das sementes inoculadas, uma vez que não houve diferença entre os tratamentos e a testemunha. Contudo, o efeito da inoculação sobre as variáveis acima mencionadas não se refletiu na produtividade do milho.

Não foi constatada influência positiva da inoculação das sementes com BPCP para o número de fileiras de grãos por espiga (NFE), número de grãos por fileira (NGF) número de grãos por espiga (NTG), peso dos grãos das 5 espigas sem palha (P(5)), comprimento das espigas (CE), peso de 1000 grãos (P(1000)), conteúdo de nitrogênio nos grãos (CN) e produtividade (PRD) (Tabela 5, Figura 12). ZEMRANY et al. (2006) estudando por dois anos consecutivos a inoculação de *A. brasilense* em milho, constataram efeito da inoculação sobre o crescimento de raízes e o desenvolvimento

de plantas, mas não encontraram respostas agronômicas favoráveis sobre a produtividade de grãos. Resultado semelhante foi evidenciado por ROBERTO et al., (2010), já que quando analisado o efeito da aplicação de diferentes doses de inoculante à base *Azospirillum* em sementes de milho, não foram verificados incrementos na massa fresca do sistema radicular e muito menos no acúmulo de massa seca da parte aérea. Corroborando ainda com os resultados obtidos neste estudo, CAMPOS et al. (2000); PANDOLFO et al. (2015); MASCARELLO & ZANÃO - JÚNIOR (2015) e BARTCHECHEN et al. (2011) também não verificaram respostas agronômicas favoráveis da inoculação de milho com *Azospirillum brasilense* na produtividade de grãos e massa de mil grãos. Ademais, de acordo com HUNGRIA (2011), tais resultados relacionados aos efeitos da inoculação sobre a produtividade, são dependentes de características genéticas da planta, e a influência positiva é melhor observada em lavouras com investimentos mais baixos.

Em contrapartida, há diversos relatos na literatura de estudos como o de LANA et al., (2012), em que verificaram que a inoculação com *Azospirillum* sem a adição de N proporcionou incrementos de 7 a 14% na produtividade de grãos de milho. Ainda certificando os benefícios das BPCP para o milho, SWEDRZYNSKA & SAWICKA (2000); HUNGRIA et al., (2010); PORTUGAL et al., (2012) e KAPPES et al., (2013ab) encontraram aumentos no rendimento de grãos de milho, quando as plantas foram inoculadas concomitantemente à aplicação de doses de 20-24 kg.ha⁻¹ de N. Há indícios de que determinadas estirpes de BPCP utilizem N oriundo da adubação nitrogenada, para assimilar carbono e multiplicar-se mais depressa, incrementando os efeitos da inoculação. Entretanto nesse estudo, por algum motivo não foi possível verificar essa atuação das BPCP, talvez se em adição tivesse sido realizada aplicação de diferentes doses de N nos diversos tratamentos as BPCP utilizadas teriam apresentado influência na produtividade do milho. Sendo assim, é relevante ressaltar que as condições edafoclimáticas e intrínsecas da planta interferem na adaptação e sobrevivência das bactérias inoculadas, em função de estarem associadas à rizosfera ou no interior dos tecidos vegetais, o que as torna muito vulneráveis ao ambiente. Isso pode acarretar variação nos resultados de inoculação (sucesso ou ausência de efeito), dependendo da localização geográfica (GYANESHWAR et al., 2002; DOBBELAERE et al., 2002; DE QUADROS et al., 2014; BASHAN & HOLGUIN,

1995). As condições edafoclimáticas em que esse experimento foi instalado podem não ter favorecido a sobrevivência das BPCP. Nesse sentido, é conveniente testar as estirpes e buscar aquelas melhores adaptadas a cada região, em termos de clima, solo, sistema de manejo e cultivares.

Como mostrado neste trabalho os resultados nem sempre são positivos, apesar disso, é necessária a publicação do mesmo no meio científico para que não seja subestimado o número de resultados negativos ou sem efeito. Em acréscimo, salientamos a necessidade de novos estudos na área, uma alternativa seria o isolamento de bactérias do próprio milho com posterior inoculação das mesmas, principalmente em condições de campo, pois os resultados têm se mostrados inconsistentes nesse ambiente devido às condições edafoclimáticas e interações com a biota do solo, o que reafirma a importância e justifica a realização desses experimentos de campo.

Contudo, apesar da inoculação com BPCP ser uma tecnologia barata e de baixo impacto ambiental, há necessidade de novos estudos, levando-se em conta, entre outros fatores, os genótipos e o nível de investimento adotado na lavoura, com a finalidade de avaliar novas estirpes e tipos de formulações de inoculantes para aumentar a eficiência da inoculação com o objetivo de diminuir a dose de fertilizantes nitrogenados ou aumentar o rendimento de grãos da cultura do milho (PANDOLFO et al., 2015).



Figura 12: Imagens das 5 espigas selecionadas e utilizadas para análise das variáveis no tratamento controle (T1) e no tratamento inoculado com bactéria UFV-2212 (T5) nos 5 blocos.

Tabela 4. Análise estatística das variáveis relacionadas à coleta do milho destinado à produção de silagem.

Tratamentos	ALT	ALTE	DC	MFPA	MSPA	CN	CP	PB
	----- cm -----		- mm -	----- g -----		----- g / planta -----		
CONTROLE	262.16a	119.84a	18.66a	747.52a	194.28a	1.87a	0.24a	6.06ab
UFV1214	243.00ab	101.22b	18.28a	779.73a	186.92a	1.81a	0.26a	6.04ab
UFV1154	253.32ab	108.68ab	17.44a	752.49a	182.08a	1.76a	0.22a	6.00ab
UFV1144	249.54ab	106.2ab	17.22a	735.86a	169.13a	1.62a	0.22a	5.99ab
UFV2212	257.10ab	111.96ab	17.82a	826.22a	208.72a	1.98a	0.24a	5.99ab
UFV3143	245.62ab	99.36b	18.02a	839.48a	208.31a	2.04a	0.15a	6.17ab
UFVL-162	234.76b	105.36ab	17.32a	686.86a	165.39a	1.75a	0.24a	6.64a
UFVL-163	258.82ab	110.84ab	17.08a	811.18a	234.66a	1.98a	0.28a	6.12ab
UFVL-164	258.86ab	108.16ab	18.48a	805.07a	205.78a	2.05a	0.26a	6.14ab
LSOF7	254.60ab	112.84ab	17.88a	768.36a	194.92a	1.82a	0.20a	5.86b
QMR	154.65	76.27	2.03	15.36	9.22	0.11	0.00	0.23
CV (%)	4.94	8.05	7.97	15.99	15.84	17.63	34.48	7.87

Tabela 4: Características de crescimento e nutricional de *Zea mays* destinado à produção de silagem em resposta à inoculação de bactérias diazotróficas: ALT, altura da planta; ALTE, altura de inserção da espiga; DC, diâmetro do colmo; MFPA, matéria fresca da parte aérea; MSPA, matéria seca da parte aérea; CN, conteúdo de nitrogênio; CP, conteúdo de fósforo; PB, proteína bruta; QMR, quadrado médio do resíduo; CV coeficiente de variação.

Tabela 5. Análise estatística das variáveis relacionadas à coleta do milho destinado à produção de grãos.

Tratamentos	NP	NE	NFE	NGF	NTG	CE	PG(5)	P(1000)	CN	PRD
	----- ud -----				- cm -	----- g -----			- kg.ha ⁻¹ -	
CONTROLE	34ab	33ab	17a	24a	420a	12.68a	657.44a	312.08a	2.33a	15295.73a
UFV-1214	30b	29b	17a	25a	430a	13.84a	693.70a	297.60a	2.19a	13874.00a
UFV-1154	35ab	33ab	17a	24a	421a	13.69a	670.58a	307.28a	1.93a	15466.19a
UFV-1144	32ab	32ab	17a	25a	423a	13.36a	645.04a	291.20a	1.81a	13760.85a
UFV-2212	34ab	33ab	18a	24a	426a	13.68a	690.22a	316.32a	2.42a	15644.98a
UFV 3143	35ab	35a	17a	23a	399a	12.69a	579.58a	301.68a	2.31a	13291.70a
UFVL-162	33ab	32ab	17a	25a	428a	13.46a	679.64a	312.96a	1.83a	14952.08a
UFVL-163	37a	37a	18a	24a	430a	12.92a	650.10a	329.84a	2.25a	16035.79a
UFVL-164	36ab	35ab	16a	24a	390a	12.91a	647.66a	320.72a	2.45a	15543.84a
LSOF7	33ab	33ab	17a	24a	395a	12.84a	634.10a	299.28a	2.18a	14034.74a
QMR	3.05	3.25	1.05	2.06	11.79	0.89	79.19	26.44	0.42	21.88
CV (%)	8.68	8.63	6.86	8.07	11.80	6.00	11.42	9.34	18.97	14.25

Tabela 5: Características de produtividade de *Zea mays* destinado à produção de grãos em resposta à inoculação de bactérias diazotróficas: NP, número de plantas; NE, número de espigas; NFE, número de fileiras de grãos por espiga; NGF, número de grãos por fileira; NTG, número total de grãos por espiga; CE, comprimento da espiga; PG(5), peso dos grãos das 5 espigas; P(1000), peso de mil grãos; CN, conteúdo de nitrogênio nos grãos; PRD, produtividade do milho; QMR, quadrado médio do resíduo; CV, coeficiente de variação.

5.2.6. Conclusões

A inoculação com BPCP, nas condições edafoclimáticas em que o trabalho foi realizado, não proporcionou resultados positivos à cultura do milho para silagem, além de não apresentar respostas agronômicas favoráveis sobre a produtividade de grãos.

Ademais, ressaltamos a necessidade de novos estudos, levando-se em conta, entre outros fatores, os genótipos e o nível de investimento adotado na lavoura, para buscar e avaliar novas estirpes e tipos de formulações de inoculantes para aumentar a eficiência da inoculação com o objetivo de diminuir a dose de fertilizantes nitrogenados, pois é uma prática promissora e com potencial para o desenvolvimento de formas de manejo mais sustentáveis.

5.2.7. Bibliografia

ALVARENGA, R. C.; COBUCCI, T.; KLUTHCOUSKI, J.; WRUCK, F. J.; CRUZ, J. C.; GONTIJO NETO, M. M. **A cultura do milho na integração lavoura-pecuária**. Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

ASSIS, J. P. D., DOURADO NETO, D., MANFRON, P. A., BONNECARRÈRE, R. A. G., & MARTIN, T. N. **Simulação estocástica de atributos do clima e da produtividade potencial de milho utilizando-se distribuição triangular**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2006.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. **Inter-root movement of *Azospirillum brasilense* and subsequent root colonization of crop and weed seedlings growing in soil**. Microbial ecology, v. 29, n. 3, p. 269-281, 1995.

BARTCHECHEN, A., FIORI, C. C. L., WATANABE, S. H., & GUARIDO, R. C. **Efeito da inoculação de *Azospirillum brasiliense* na produtividade da cultura do milho (*Zea mays* L.)**. Campo Digital. Campo Mourão, PR. v. 5, p. 56-59, 2011.

BIOMATRIX. **Sementes e tecnologia**. Disponível em: <<http://biomatrix.com.br/pt/2B655HX.php>> Acesso em: 16 Dez. 2016.

BRITO, M. E. B.; ARAÚJO FILHO G. D.; WANDERLEY, J. A. C.; MELO, A. S.; COSTA, F. B.; FERREIRA, M. G. P. **Crescimento, fisiologia e produção do milho doce sob estresse hídrico**. Bioscience Journal, v.29, n.5, p.1244- 1254, 2013.

CAMPOS, B. H. C.; THEISEN, S.; GNATTA, V. **Avaliação do inoculante “graminante” na cultura de milho**. Ciência Rural, Santa Maria, v.3, n.4, p.713-715, 2000.

CLIMA TEMPO. **Características Climáticas de Florestal – MG**. Disponível em: <<http://www.climatempo.com.br>>. Acesso em: 10 Mar. 2015.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2016**. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_01_12_09_00_46_boletim_graos_janeiro_2016.pdf> Acesso em 17 Jan. 2017.

CRUZ, J. C.; PEREIRA-FILHO, A.; GONTIJO-NETO, M. M. **Milho para silagem**. EMBRAPA. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONT000fy779fnk02wx5ok0pvo4k3j537ooi.html>> Acesso em 04 Jan. 2017.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.P.; ALVARENGA, R.C.; NETO, M.M.G.; VIANA, J.H.M.; OLIVEIRA, M.F.; MATRANGOLO, W.J.R.; FILHO, M.R.A.

Cultivo do milho - Plantio. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/manejomilho.htm>. Acesso em: 01 Set. 2015.

DARTORA, J., GUIMARÃES, V. F., MARINI, D., SANDER, G. **Nitrogen fertilization associated to inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* in the maize.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 17, p. 1023-1029. 2013.

DE QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; DA SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; DE OLIVEIRA CAMARGO, F. A. . **Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum***/Field agronomic performance of maize hybrids inoculated with *Azospirillum*. Revista Ceres, v. 61, n. 2, p. 209, 2014.

DIAS, V. P.; FERNANDES, E. **Fertilizantes: uma visão global sintética.** BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 24, p. 97-138, 2006. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set2404.pdf>, Acesso em: 11 Mar. 2016.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. **Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize.** Biology and Fertility of Soils, v.36, p.284-297, 2002.

NETO, D. D.; DARIO, G. J. A.; JUNIOR, P. A. V.; MANFRO, P. A.; MARTIN, T. N.; BONNECARRERE, R. A. G. CRESPO, P. E. N. **Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho.** Revista da FZVA, v. 11, n. 1, 2004.

e-CYCLE. **Os riscos dos metais pesados presentes em fertilizantes.** Disponível em: <<http://www.ecycle.com.br/component/content/article/63-meio-ambiente/2327-osriscos-dos-metais-pesados-presentes-em-fertilizantes.html>>. Acesso em: 11 Mar. 2016.

FANCELLI, A. L. **Fisiologia, nutrição e adubação do milho para alto rendimento.** In: SIMPÓSIO SOBRE ROTAÇÃO SOJA/MILHO NO PLANTIO DIRETO, Piracicaba, Anais. IPNI, p. 9, 2000.

FARINELLI, R., HANASHIRO, R. K., AMARAL, C. B., FILHO, D. F. **Resposta da Cultura do Milho à Inoculação de Sementes e Adubação Nitrogenada em Cobertura.** In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Águas de Lindóia.

Anais... Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2012. p. 1672-1678, 2012.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. 1. ed. Jaboticabal: Funep, 2007. 573p.

FRAZÃO, J. J.; DA SILVA, A. R.; DA SILVA, V. L.; OLIVEIRA, V. A.; CORRÊA, R. **Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e ureia na cultura do milho**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 18, n. 12, p. 1262-1267, 2014.

GYANESHWAR, P.; KUMAR, G. N.; PAREKH, L. J.; POOLE, P. S. **Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants**. Plant Soil, 245: 83-93, 2002.

GONTIJO, J. B.; SILVEIRA, K. C.; OLIVEIRA, F. M.; GONÇALVES, J.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. **Caracterização de bactérias diazotróficas associadas às raízes e folhas de *Cymbidium sp.*** In: XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, Florianópolis, 2013.

HAUAGE, T. **Como estimar a produtividade do milho**. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/blog/26/como-estimar-a-produtividade-do-milho>>. Acesso em: 03 Ago. 2015.

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

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 36 p. 2011.

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

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. 2015. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201504.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201504.pdf)>. Acesso em: 01 Ago. 2015.

INMET – INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – **Estações automáticas – Florestal/MG**. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/sonabra/pg_dspDadosCodigo_sim.php?QTUzNQ==>. Acesso em: 01 Abr. 2016.

JUN-HONG, LIU; BO, YANG. **The pre-treatment of corn straw in the bioethanol production in China.** Energy & Environment, v. 27, n. 3-4, p. 414-419, 2016.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; DE CASTILHO GITTI, D.; ALCALDE, A. M. **Uso de reguladores de crescimento no desenvolvimento e produção de crotalária.** Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics), v. 41, n. 4, p. 10-5216, 2011.

KAPPES, C.; ARF, O.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P.; DAL BEM, E. A.; PORTUGAL, J. R.; VILELA, R. G. **Inoculação de sementes com bactéria diazotrófica e aplicação de nitrogênio em cobertura e foliar em milho.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 2, p. 527-538, 2013a.

KAPPES, C.; ZANCANARO, L.; LOPES, A. A.; KOCH, C. V.; FUJIMOTO, G. R.; FRANCISCO, E. A. B. **Fontes e doses de nitrogênio na cultura do milho em sistema de semeadura direta.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34., 2013, Florianópolis. Programa & Resumos Florianópolis: EPAGRI/SBCS, 2013b. (CD-ROM).

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. H. **Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize.** Revista Ceres, v.59, p.399-405, 2012.

LIBÓRIO, P. H. S. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada reduzida em híbridos de milho.** Nucleus, v. 13, n. 2, p. 241-252, 2016.

LOZADA, J. A. R. **Prospecção de bactérias do lodo de esgoto de abatedouro de aves com potencial degradador de substâncias orgânicas e promotor do crescimento de plantas.** Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários. Universidade Federal de Viçosa, Campus Florestal, 77p, 2015.

MARENGONI, N. G.; KLOSOWSKI, E. S.; OLIVEIRA, K. P. de; CHAMBO, A. P. S.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. **Bioacumulação de Metais Pesados e Nutrientes no Mexilhão Dourado do Reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional.** Química Nova, v. 36, n. 2, p. 359-363, 2013.

MAJEROWICZ, NIDIA et al. Estudo da eficiência de uso do nitrogênio em variedades locais e melhoradas de milho. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 02, p. 129-136, 2002.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia: o impacto na sociedade.** Biblioteca Max Feffer, 2011.

MALDANER, L. J.; HORING, K.; SCHNEIDER, J. F.; FRIGO, J. P.; AZEVEDO, K. D.; GRZESIUCK, A. E. **Exigência agroclimática da cultura do milho (*Zea mays*)**. Revista Brasileira de Energias Renováveis, v.03, p.13- 23, 2014.

MASCARELLO, G. ZANÃO-JÚNIOR, L. A. **Produtividade de milho em resposta a doses de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense***. Cultivando o saber, p. 46-55, 2015.

MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFALO, L.; PELIZZA, T. R.; RUFATO, A. D. R.; MACEDO, T. A. D. **General aspects of physalis cultivation**. Ci Rural, v. 44, n. 6 p. 964-970, 2014.

NEUMANN, M., OST, P., LUSTOSA, S., ANDREY DE RE, D., DEFAVERI, F., OLIVEIRA, M. D.; PELLEGRINI, L. D. **Comportamento produtivo de híbridos de milho (*Zea mays* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor*) para produção de silagem**. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, v. 43, 2006.

PANDOLFO, C. M., VOGT, G. A., BALBINOT JÚNIOR, A. A., GALLOTTI, G. J. M., & ZOLDAN, S. R. **Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a doses de nitrogênio em cobertura**. Agropec. Catarin, v. 27, p. 94-9, 2015.

PAZIANI, S. F.; DUARTE, A. P.; NUSSIO, L. G.; GALLO, P. B.; BITTAR, C. M. M.; ZOPOLLATTO, M.; RECO, P. C. **Características agronômicas e bromatológicas de híbridos de milho para produção de silagem**. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.38, n.3, p. 411-417, 2009.

PEREIRA, L. de M. **Qualidade de sementes, teor de nitrogênio e expressão gênica em genótipos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense***. Tese (Doutorado) UNESP, FCAV, Jaboticabal. 56f. 2014.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; LONGUI, W. V.; GITTI, D. C.; BARBIERI, M. K. F.; GONZAGA, A. R.; TEIXEIRA, D. S. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar associada à doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., Águas de Lindóia. Resumos Campinas: IAC/ABMS, p. 1413-1419, 2012.

PÖTTKER, D.; WIETHÖLTER, S. **Épocas e métodos de aplicação de nitrogênio em milho cultivado no sistema plantio direto**. Ciência Rural, v. 34, n. 4, p. 1015-1020, 2004.

RICHARDSON, A. E. **Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants**. Functional Plant Biology, v. 28, n. 9, p. 897-906, 2001.

ROCHA, G. O.; ANDRADE, J. B. D.; GUARIEIRO, A. L. N.; GUARIEIRO, L. L. N.; RAMOS, L. O. **Chemistry without borders: the energy challenges**. Química Nova, v. 36, n. 10, p. 1540-1551, 2013.

ROBERTO, V. M. O.; SILVA, C. D.; LOBATO, P. N. **Resposta da cultura do milho à aplicação de diferentes doses de inoculante (*Azospirillum brasilense*) via semente**. In: 28o Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia. Anais, Associação Brasileira de Milho e Sorgo. p. 2429-2434, 2010.

OKON, Y.; LABANDERA-GONZALEZ, C. **Agronomic application of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field incubation**. Soil Biology and Biochemistry, v.26, p.1591- 1601, 1994.

SALAMONE, I. E. G; DÖBEREIER, J. **Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation**. Biology and Fertility of Soils, v. 21, p. 193-196, 1996.

SANTOS, D. G.; BRASIL, E. C.; CARVALHO, M. C. S.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; AMARAL, A. J. M. S.; HUNGRIA, L. C. **Eficiência de fertilizantes nitrogenados de liberação lenta em sistema de produção de milho durante dois ciclos agrícolas na Amazônia**. In XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Florianópolis, SC, 2013.

SILVA, E.; FERREIRA, S. M.; SILVA, G. O.; ASSIS, R. L.; GUIMARÃES, G. L. **Épocas e formas de aplicação de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo de cerrado**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 29, n. 5, p. 725-733, 2005.

SILVEIRA, K. C.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. **Isolamento, caracterização e seleção de bactérias promotoras de crescimento na orquídea *Dendrobium nobile***. In: Fertbio, Araxá, 2014.

SIMÕES, M. P.; ANDRADE, G. V. S.; BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B. **Solubilização de óxido de zinco e fosfato de cálcio por bactérias diazotróficas isoladas da orquídea *Epidendrum secundum***. In: Fertbio, Araxá, 2014.

SMITH, S.; KURTZ, B. **Why do us corn yields increase? The contributions of genetics, agronomy, and policy instruments**. AgBioForum, v. 18, n.3, p. 297-302, 2015.

SWEDRZYNSKA, D.; SAWICHA, A. **Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of maize (*Zea mays ssp. saccharata* L.) under different cultivation conditions**. Polish Journal of Environmental Studies, v. 9, p. 505- 509, 2000.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. **Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet**

(*Pennisetum americanum* L.). Applied and Environmental Microbiology, v.37, p.1016-1024, 1979.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **World Agricultural Supply and Demand Estimates - Fevereiro 2016**. Disponível em: <<http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/wasde/wasde-02-09-2016.pdf>>. Acesso em: 05 Jan. 2016.

VERONA, D. A.; DUARTE JUNIOR, J. B.; ROSSOL, C. D.; ZOZ, T.; COSTA, A. C. T. **Tratamento de Sementes de Milho com Zeavit®, Stimulate® e Inoculação com *Azospirillum* sp.** In.: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 18., 2010. Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010.

ZEMRANY H.; CORLET, J.; LUTZ, M. P.; CHABERT, A.; BAUDOIN, E.; HAURAT, J.; MAUGHAN, N.; FELIX, D.; DÉGAGO, G.; BALLY, R.; MOENNE-LOCCOZ, Y. **Field survival of the phytostimulator *Azospirillum lipoferum* crt1 and functional impact on maize crop, biodegradation of crop residues, and soil faunal indicators in a context of decreasing nitrogen fertilization.** Soil Biology & Biochemistry, 38:1712-1726, 2006.

6. CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se, portanto, que a inoculação com BPCP, em viveiro proporcionou resultados positivos à cultura do milho quando utilizou-se a estirpe UFV-2212, entretanto não refletiu em incrementos na produtividade dos grãos nas condições edafoclimáticas em que o trabalho foi realizado a campo. Portanto, há necessidade de novas pesquisas para aprimorar o processo de inoculação e permanência dos mecanismos bacterianos de promoção do crescimento de plantas à campo, pois estudos mostram que a utilização de BPCP é uma prática promissora e com potencial para o desenvolvimento de formas de manejo mais sustentáveis.

Sugere-se também pesquisas enfatizando novas formas de inoculação de sementes de milho com BPCP isoladas de plantas diversas ou do próprio milho, concomitantemente à aplicação de ácidos húmicos e outras substâncias bioativas, ou ainda doses distintas de N, pois essas práticas talvez podem resultar em promoção do crescimento e desenvolvimento de plantas de milho e os resultados permitem inferir que a tecnologia utilizada pode ser aperfeiçoada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESEMOYER, A. O.; KLOEPPER, J. W. **Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency**. Applied microbiology and biotechnology, v. 85, n. 1, p. 1-12, 2009.

AGARWAL, S.; SHENDE, S. T. **Tetrazolium reducing microorganisms inside the roots of Brassica species**. Current Sciences, Bangalore, v. 56, p. 187-188, 1987.

AGROLINK. **Histórico de cotações do milho**. Disponível em: <<http://www.agrolink.com.br/cotacoes/Historico.aspx?e=9839&p=1772&l=13142>>. Acessado em: 05 Mar. 2016.

AMORIM, E. P. R.; MELO, I. S. **Ação antagônica de rizobactérias contra Phytophthora parasítica e P. citrophthora e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 24, n. 2, p. 565-568, 2002.

ANDRADE, A. C.; FONSECA, D. D.; QUEIROZ, D. S.; SALGADO, L. T.; CECON, P. R. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier). Ciência e Agrotecnologia, v. 27, p. 1643-1651, 2003.

BABALOLA, O. O. **Beneficial bacteria of agricultural importance**. Biotechnology letters, v. 32, n. 11, p. 1559-1570, 2010.

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; BRESSAN-SMITH, R. **Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill) cultivar Vitória durante a aclimatização**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 34, n. 2, p. 349-360, 2010.

BALDOTTO, L. E. B.; OLIVARES, F. L.; BRESSAN-SMITH, R. **Structural interaction between GFP-labeled diazotrophic endophytic bacterium *Herbaspirillum seropedicae* RAM10 and pineapple plantlets 'Vitória'**. Brazilian Journal of Microbiology, v.42, n.1, 2011.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. **How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment**. Advances in agronomy, v. 108, p. 77-136, 2010.

BASI, S.; NEUMANN, M.; MARAFON, F.; UENO, R. K.; SANDINI, I. E. **Influência da adubação nitrogenada sobre a qualidade da silagem de milho**. Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia, v. 4, n. 3, 2011.

BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. **Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future**. Fertilizer Research, v. 42, n. 1-3, p. 241-250, 1995.

BODDEY, R. M.; DÖBEREINER, J. **Nitrogen fixation associated with grasses and cereal: recent results and perspectives for future research.** Plant and Soil, v. 108, n. 1, p. 53-65, 1988.

BOLSA DE MERCADOS E FUTUROS - BM&FBOVESPA. **Boletim diário - Segmento BM&F referente a 3 de março de 2016.** Disponível em: <http://www.bmfbovespa.com.br/download/BOLETINSDIARIOS/bd_00_20160303.pdf> Acessado em 5 Mar. 2016.

BORÉM, A.; GLAVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. **Milho: do plantio à colheita.** ed. 1, Editora UFV, 351p, 2015.

BORUCKI, W. J., CHAMEIDES, W. L. Chameides. **Lightning: Estimates of the rates of energy dissipation and nitrogen fixation.** Reviews of Geophysics, v. 22, n. 4, p. 363–372, 1984.

CALDARELLI, C. E.; BACCHINI, M. R. P. **Fatores de influência no preço do milho no Brasil.** Nova Economia, v. 22, n. 1, p. 141-164, 2012.

CANCELLIER, L. L.; AFFÉRI, F. S.; CARVALHO, E. V.; DOTTO, M. A.; LEÃO, F. F. **Eficiência no uso de nitrogênio e correlação fenotípica em populações tropicais de milho no Tocantins.** Revista Ciência Agronômica, v. 42, n. 1, p. 139-148, 2011.

CANELLAS, L. P.; BALMORI, D. M.; MÉDICI, L. O.; AGUIAR, N. O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R. C. C.; FAÇANHA, A. R.; OLIVARES, F. L. **A combination of humic substances and Herbaspirillum seropedicae inoculation enhances the growth of maize (Zea mays L.).** Plant Soil, v. 366, n. 1-2, p. 119-32, 2013.

CAVALLET, L. E., LUCCHESI, L. A. C.; MORAES, A.; SCHIMIDT, E.; PERONDI, M. A.; FONSECA, R. A. **Melhoria da fertilidade do solo decorrentes da adição de água residuária da indústria de enzimas.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 10, n. 3, p. 724-729, 2006.

CLEVELAND, C. C.; TOWNSEND, A. R.; SCHIMEL, D. S.; FISHER, H., HOWARTH, R. W.; HEDIN, L. O.; PERAKIS, S. S.; LATTY, E. F.; VON FISCHER, J. C.; ELSEROAD, A.; WASSON, M. F. **Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N₂) fixation in natural ecosystems.** Global Biogeochemical Cycles, v. 13, n. 2, p. 623-645, 1999.

CLIMA TEMPO. **Características Climáticas de Florestal – MG.** Disponível em: <<http://www.climatempo.com.br>>. Acesso em: 10 mar. 2015.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira - Quinto Levantamento – safra 2015/2016.** v.3, n. 5, 2016.

Disponível em
<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_02_04_11_21_34_boletim_graos_fevereiro_2016_ok.pdf>. Acesso em: 05 Mar. 2016.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Perspectivas para a agropecuária**. Safra 2013/2014. v. 1, p. 1-154, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Perspectivas para a agropecuária**. Safra 2014/2015. v. 2, p. 1-155, 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Conjuntura Semanal – Milho – Período de 10 a 14/08/2015**. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_17_17_43_47_conjuntura_semanal_de_10_a_14.pdf>. Acesso em: 02 Out. 2015.

CRUZ, J. C.; FILHO, I. A. P.; GARCIA, J. C.; DUARTE, J. O. **Cultivo do milho – Cultivares**. Embrapa Milho e Sorgo, 2010. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/cultivares.htm>. Acesso em: 01 Set. 2015.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; PIMENTEL, M. A. G.; COELHO, A. M.; KARAM, D.; CRUZ, I.; GARCIA, J. C.; MOREIRA, J. A. A.; OLIVEIRA, M. F. de; GONTIJO NETO, M. M.; ALBUQUERQUE, P. E. P. de; VIANA, P. A.; MENDES, S. M.; COSTA, R. V. da; ALVARENGA, R. C.; MATRANGOLO, W. J. R. **Produção de milho na agricultura familiar**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 42 p. 2011.

DE BARCELLOS FERREIRA, A. C.; ARAÚJO, G. A. A.; PEREIRA, P. R. G.; CARDOSO, A. A. **Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco**. Scientia Agricola, v. 58, n. 1, p. 131-138, 2001.

DEBRUIN, J.; BUTZEN, S. **Nitrogen uptake in corn**. DuPont Pioneer, 2014. (Crop Insights, 24/4). Disponível em: <<https://www.pioneer.com/home/site/us/agronomy/library/n-uptake-corn/>>. Acessado em 14 Mar. 2016.

DEY, R.; PAL, K. K.; BHATT, D. M.; CHAUHAN, S. M. **Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria**. Microbiological Research, v. 159, n. 4, p. 371-394, 2004.

DIAS, V. P.; FERNANDES, E. **Fertilizantes: uma visão global sintética**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 24, p. 97-138, 2006. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/set2404.pdf>, Acesso em: 11 Mar. 2016.

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

DÖBEREINER, J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, 66p., 1995.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2.ed. Londrina: Editora Planta, 403p., 2006.

e-CYCLE. **Os riscos dos metais pesados presentes em fertilizantes**. Disponível em: <<http://www.ecycle.com.br/component/content/article/63-meio-ambiente/2327-osriscos-dos-metais-pesados-presentes-em-fertilizantes.html>>. Acesso em: 11 Mar. 2016.

FANCELLI, A. L. **Plantas alimentícias: guia para aula, estudos e discussão**. Piracicaba: Centro Acadêmico “Luiz de Queiroz”, 1986.

FAO. Food Agriculture Organization of the United. **How to feed the world 2050: Global agriculture toward 2050**. High-level expert forum. 2009. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/HLEF2050_Global_Agriculture.pdf>. Acesso em: 16 Fev. 2016.

FARINELLI, R. CERVEIRA JUNIOR, W. R. **Resposta de cultivares de milho transgênico e convencional a densidades populacionais**. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.13, n.3, p. 336-346, 2015.

FERNANDEZ-CORTEJO, J.; WECHSLER, S.; LIVINGSTON, M. MITCHELL, L. **Genetically Engineered Crops in the United States, ERR-162** U. S. Department of Agriculture, Economic Research Service, 2014.

FERREIRA, E. P. B.; KNUPP, A. M.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. **Crescimento de Cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas**. Biosci. J., v. 30, n. 3, p. 655-665, 2013.

FERREIRA, M. M.; **Sintomas de deficiência de macro e micronutrientes de plantas de milho híbrido BRS 1010**. Revista Agro@ambiente On-line, v. 6, n. 1, p. 74-83, 2012.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. 1. ed. Jaboticabal: Funep, 573p, 2007.

FRANCHE, C., LINDSTROM, K., ELMERICH, C. **Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants**. *Plant and soil*, v. 321, n. 1-2, p. 35-59, 2009.

FRAZÃO, J. J.; DA SILVA, A. R.; DA SILVA, V. L.; OLIVEIRA, V. A.; CORRÊA, R. **Fertilizantes nitrogenados de eficiência aumentada e ureia na cultura do milho**. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 18, n. 12, p. 1262-1267, 2014.

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

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

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

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

HAYAT, R.; ALI, S.; AMARA, U.; KHALID, R.; AHMED, I. **Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review**. *Annals of Microbiology*, v. 60, n. 4, p. 579-598, 2010.

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

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 36 p. 2011.

INDEXMUNDI. **Urea monthly price - US dollars per metric ton**. 2016. Disponível em <<http://www.indexmundi.com/commodities/?commodity=urea>>. Acesso em 14 de março de 2016.

INTL FCSTONE. **Commodity Insight Maio de 2013. Consumo de Macronutrientes (NPK) deve ser de 13,054 milhões de toneladas em 2013**. Disponível em: <[http://www.intlfcstone.com.br/content/upload/arquivos/Consumo%20de%20Fertilizantes%20no%20Brasil\(1\).pdf](http://www.intlfcstone.com.br/content/upload/arquivos/Consumo%20de%20Fertilizantes%20no%20Brasil(1).pdf)>. Acesso em: 06 Mar. 2016.

JUN-HONG, L.; BO, Y. **The pre-treatment of corn straw in the bioethanol production in China**. *Energy & Environment*, p. 0958305X15627548, 2016.

LAZZARETI, E.; BETTIOL, W. **Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis***. Scientia Agricola, Piracicaba, v. 54, n. 1-2, p. 89-96, 1997.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia: o impacto na sociedade**. Biblioteca Max Feffer, 2011.

MARTINEZ-VIVEROS, O.; JORQUERA, M. A.; CROWLEY, D. E.; GAJARDO, G. M. L. M.; MORA, M. L. **Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria**. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, v. 10, n. 3, p. 293-319, 2010.

MARENGONI, N. G.; KLOSOWSKI, E. S.; OLIVEIRA, K. P. de; CHAMBO, A. P. S.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. **Bioacumulação de Metais Pesados e Nutrientes no Mexilhão Dourado do Reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu Binacional**. Química Nova, v. 36, n. 2, p. 359-363, 2013.

MASCIARELLI, O.; LLANES, A.; LUNA, V. **A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation**. Microbiological Research, v. 169, n. 7-8, p. 609-615, 2014.

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

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

MIRANSARI, M. **Soil microbes and plant fertilization**. Applied microbiology and biotechnology, v. 92, n. 5, p. 875-85. 2011.

MOREIRA, F. M. S.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F.; SILVA K. **Bactérias associativas: fixadoras de nitrogênio atmosférico**. In: MOREIRA, F. M. S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R.; STÜMER, S. L. (eds). O ecossistema solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal. Lavras: UFLA. p. 341-350. 2013.

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

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2 ed. Lavras: UFLA, 729p. 2006.

NOVAKOWSKI, J. H.; SANDINI, I. E.; FALBO, M. K.; MORAES, A.; NOVAKOWSKI, J. H.; CHENG, N. C. **Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho**. Semina: Ciências Agrárias, v. 32, p. 1687-1698, 2011.

NOZAKI, M. H.; LORENZATTO, R.; MANCINI, M. **Efeito do *Azospirillum* spp. em associação com diferentes doses de adubação mineral na cultura do trigo**. Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde, v. 17, n. 6, p. 27-35, 2013.

OLIVARES, F. L.; JAMES, E. K.; BALDANI, J. I. & DÖBEREINER, J. **Infection of mottled stripe disease-susceptible and resistant sugar cane varieties by the endophytic diazotroph *Herbaspirillum***. New Phytol., v. 135, p. 723-737, 1997.

OSORIO FILHO, B. D.; BINZ, A.; LIMA, R. F.; GIONGO, A.; SACCOL de SÁ, E. L. **Promoção de crescimento de arroz por rizóbios em diferentes níveis de adubação nitrogenada**. Ciência Rural, ISSN 0103-8478, 2015.

PAIVA, M. R. F. C.; SILVA, G. F.; OLIVEIRA, F. H. T.; PEREIRA, R. G.; QUEIROGA, F. M. **Doses de nitrogênio e de fósforo recomendadas para produção econômica de milho-verde na Chapada do Apodi-RN**. Revista Caatinga, v.25, n. 4, p.1-10, 2012.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M. S. **Melhoramento do Milho**. In: BORÉM, A. (Ed.). Melhoramento de Espécies Cultivadas. 2 ed. Viçosa: UFV, p. 491-552, 2005.

PETRINI, O. **Fungal endophyte of tree leaves**. In ANDREWS, J.; HIRANO, S. S. Microbial ecology of leaves. New York: Springer Verlag, p. 179-197, 1991.

PÖTTKER, D.; WIETHÖLTER, S. **Épocas e métodos de aplicação de nitrogênio em milho cultivado no sistema plantio direto**. Ciência Rural, v. 34, n. 4, p. 1015-1020, 2004.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: Potafos, 343p. 1991.

RAIJ, B. van. **Fósforo no solo e interação com outros elementos**. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. Fósforo na agricultura brasileira. Piracicaba: POTAFOS, p.106-114, 2004.

REIS, V. M.; BALDANI, V. L.; DÖBEREINER, J. **Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees**. Critical Reviews in Plant Science, v.19, p. 227-247, 2000.

REPKE, R. A.; CRUZ, S. J. S.; SILVA, C. J. D.; FIGUEIREDO, P. G.; BICUDO, S. J. **Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho.** Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.12, n. 3, p. 214-226, 2014.

RICHARDSON, A. **Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants.** Functional Plant Biology, v. 28, n. 9, p. 897-906, 2001.

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

ROCHA, G. O.; ANDRADE, J. B. D.; GUARIEIRO, A. L. N.; GUARIEIRO, L. L. N.; RAMOS, L. O. **Chemistry without borders: the energy challenges.** Química Nova, v. 36, n. 10, p. 1540-1551, 2013.

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

RODRIGUEZ, J. A. L. **Prospecção de bactérias do lodo de esgoto de abatedouro de aves com potencial degradador de substâncias orgânicas e promotor de crescimento de plantas.** Universidade Federal de Viçosa - *Campus Florestal*, Florestal, MG, 77p., 2015.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M. L.; PUCCI, A. L. R.; STRIEDER, M.; ZANIN, C. G.; SILVA, L. C.; VIEIRA, R. J. **A aplicação precoce de nitrogênio em cobertura não aumenta o rendimento de grãos do trigo cultivado na presença do alumínio.** Ciência Rural, v. 38, n. 4, p. 912-920, 2008.

SANGOI, L.; SCHMITT, A.; SILVA, P. R. F.; VARGAS, V. P.; ZOLDAN, S. R.; VIEIRA, J.; SOUZA, C. A.; BIANCHET, P. **Perfilhamento como característica mitigadora do prejuízo ocasionados ao milho pela desfolha do colmo principal.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF, v. 47, n. 11, p. 1605-1612, 2012.

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

SANTOS, D. G.; BRASIL, E. C.; CARVALHO, M. C. S.; OLIVEIRA JUNIOR, A.; AMARAL, A. J. M. S.; HUNGRIA, L. C. **Eficiência de fertilizantes nitrogenados de liberação lenta em sistema de produção de milho durante dois ciclos agrícolas na Amazônia.** In XXXIV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Florianópolis, SC, 2013.

SANTOS, D. H.; SILVA, M. A.; TIRITAN, C. S.; FOLONI, J. S. S.; ECHER, F. R. **Qualidade tecnológica da cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 15, n. 5, p. 443–449, 2011.

SILVA, E.; FERREIRA, S. M.; SILVA, G. O.; ASSIS, R. L.; GUIMARÃES, G. L. **Épocas e formas de aplicação de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo de cerrado.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 29, n. 5, p. 725-733, 2005.

SMITH, S.; KURTZ, B. **Why do us corn yields increase? The contributions of genetics, agronomy, and policy instruments.** AgBioForum, v. 18, n.3, p. 297-302, 2015.

SOKOLOVA, M. G.; AKIMOVA, G. P.; VAISHLYA, O. B. **Effect of phytohormones synthesized by rhizosphere bacteria on plants.** Applied Biochemistry and Microbiology, v. 47, n. 3, p. 274-278, 2011.

SORATTO, R. P.; PEREIRA, M.; MOINGOTTI DA COSTA, T. A.; LAMPERT, V. D. N. **Fontes alternativas e doses de nitrogênio no milho safrinha em sucessão à soja.** Revista Ciência Agronômica, v. 41, n. 4, p. 511-518, 2010.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; MÓGOR, A. F.; RUARO, L.; RODER, C. **Crescimento de mudas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) estimulado pela bactéria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 em cultura orgânica.** Revista de Ciências Agrárias, v. 38, n. 1, p. 26-33, 2015.

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

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

TIKHONOVICH, I. A.; PROVOROV, N. A. **Microbiology is the basis of sustainable agriculture: an opinion.** Annals of Applied Biology, v. 159, n.2, p. 155-168, 2011.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE - USDA. **World Agricultural Production.** 2015. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em: 25 Ago. 2015.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE - USDA. **World Agricultural Production.** 2016. Disponível em:

<<http://www.ers.usda.gov/topics/crops/corn/background.aspx>>. Acesso em: 11 Fev. 2016.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **World Agricultural Supply and Demand Estimates - Fevereiro 2016**. Disponível em: <<http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/wasde/wasde-02-09-2016.pdf>>. Acesso em: 05 Mar. 2016.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M.L.; TOURAINE, B.; PRIGENT-COMBARET, C. **Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning**. *Frontiers of Plant Science*, 166p. 2014.

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

ZEHR, J. P.; CARPENTER, E. J.; VILLAREAL, T. A. **New perspectives on nitrogen-fixation microorganisms in tropical and subtropical oceans**. *Trends Microbiol*, v. 8, p. 68-73, 2000.

ZHANG, S.; MOYNE, A. L.; REDDY, M. S.; KLOEPPER, J. W. **The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco**. *Biological Control*, v. 25, p. 288-296, 2002.

ZHAN, J.; SUN, Q. **Diversity of free-living nitrogen-fixing microorganisms in the rhizosphere and non-rhizosphere of pioneer plants growing on wastelands of copper mine tailings**. *Microbiological Research*, v. 167, n.3, p. 157-165, 2012.

8. ANEXOS

8.1. Análises de variância.

8.1.1. Trabalho 1. Crescimento do milho em resposta à inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas em viveiro.

Quadro 1. Análise de variância para as características de crescimento da parte aérea e sistema radicular do milho, em resposta à inoculação de bactérias isoladas orquídea.

F.V	GL	NF	ALT	DC	MFR	MFPA	MFT	MSR	MSPA	MST
		- ud -	- cm -	- mm -						
Repetição	4	0.06	17.11	0.0486	0.5704	0.2245	0.6055	0.0394	0.0058	0.0404
Tratamentos	9	0.12	19.61	0.1368	2.2245	0.1446	2.8907	0.1032*	0.0042	0.1218*
Resíduo	120	0.14	15.94	0.1007	1.1541	0.1261	1.6388	0.0391	0.0024	0.0460
C.V		8.74	12.66	13.09	22.2318	19.6875	19.29	23.5278	17.8678	19.30

* Nível de Significância 5%.

NF, número de folhas; ALT, altura da planta; DC, diâmetro do colmo; MFR, matéria fresca da raiz; MFPA, matéria fresca da parte aérea; MSR, matéria seca da raiz; MSPA, matéria seca da parte aérea; MST, matéria seca total; CV coeficiente de variação.

8.1.2. Desempenho agrônômico do milho para produção de silagem em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas em campo.

Quadro 2. Análise de variância para as características de crescimento da parte aérea do milho destinado à produção de silagem, em resposta à inoculação de bactérias isoladas orquídea e lodo de esgoto de abatedouro de aves.

F.V	GL	ALT	ALTE	DC	MFPA	MSPA	CN	CP	PB
		---- cm ----		- mm -	----- g -----				
Repetição	5	391.17	5.58	5.58	24961.00	4334.20	0.28	0.01	0.073
Tratamentos	24	364.52	1.16	1.16	10901,00	1223.70	0.10	0.01	0.22
Resíduo	120	154.65	2.04	2.04	15360.00	922.20	0.11	0.01	0.23
C.V		4.94	8.05	7.97	15.99	15.84	17.63	34.48	7.87

* Nível de Significância 5%.

ALT, altura da planta; ALTE, altura de inserção da espiga; DC, diâmetro do colmo; MFPA, matéria fresca da parte aérea; MSPA, matéria seca da parte aérea; CN, conteúdo de nitrogênio; CP, conteúdo de fósforo; PB, proteína bruta total; CV coeficiente de variação.

8.1.3. Desempenho agronômico do milho para produção de grãos em resposta à inoculação com bactérias diazotróficas em campo.

F.V	GL	NP	NE	NFE	NGF	NTG	CE	PG(5)	P(1000)	CN	PRD
		----- ud -----					-cm-	----- g -----		g/planta	- Kg.ha ⁻¹ -
Repetição	4	25.43	39.63	1.65	11.16	4116.10	2.25	13583.30	908.24	0.45	2491603.00
Tratamentos	9	20.61	22.98	1.33	1.99	1172.60	0.93	5497.60	693.40	0.21	3966571.00
Resíduo	36	8.68	8.19	1.37	3.85	2411.10	0.63	5595.40	832.57	0.16	4436911.00
C.V		8.68	8.63	6.86	8.07	11.80	6.00	11.42	9.34	18.97	14.25

* Nível de Significância 5%.

NP, número de plantas; NE, número de espigas; NFE, número de fileiras de grãos por espiga; NGF, número de grãos por fileira; NTG, número total de grãos por espiga; CE, comprimento da espiga; PG(5), peso dos grãos de 5 espigas; P(1000), peso de 1000 grãos; CN, conteúdo de nitrogênio dos grãos; PRD, produtividade; CV, coeficiente de variação.