



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JULIANA DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE RIZOBACTERIAS NA CULTURA DO MILHO

LARANJEIRAS DO SUL

2017

JULIANA DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE RIZOBACTERIAS NA CULTURA DO MILHO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. José Francisco Grillo

LARANJEIRAS DO SUL

2017

Nascimento, Juliana do

AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE RIZOBACTERIAS NA CULTURA DO MILHO/ Juliana do Nascimento. -- 2017.
42 f.:il.

Orientador: José Francisco Grillo.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
aGRONOMIA , Laranjeiras do Sul, PR, 2017.

1. O MILHO. 2. RIZOBACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA CULTURA DO MILHO. 3. NITROGÊNIO E FÓSFORO NA CULTURA DO MILHO.
I. Grillo, José Francisco, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

JULIANA DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE RIZOBACTERIAS NA CULTURA DO MILHO

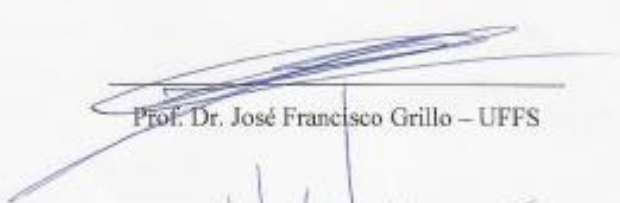
Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. José Francisco Grillo

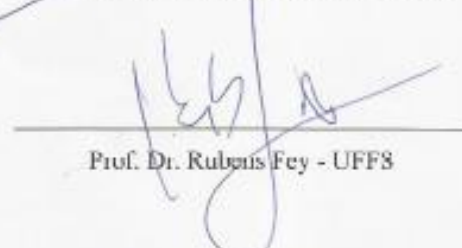
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

11 / 12 / 17

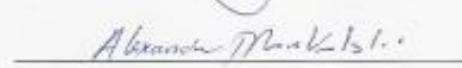
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Francisco Grillo – UFFS



Prof. Dr. Rubens Fey - UFFS



Prof. MSc. Alexandre Monkolski - UFFS

Dedico à minha mãe, que lutou e trabalhou muito para que eu pudesse estudar e ter uma vida digna e que não está mais entre nós, na terra, mas que sempre estará no meu coração. Sinto muito a sua falta.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus pela vida, à minha mãe Georgina do Nascimento e à minha família pela ajuda e apoio.

Agradeço aos técnicos da UFFS Silvana da Costa, Frank Belettini, Marcelo Grassi, Diego Siqueira, Diogo Siqueira, Sr. Antonio pela colaboração.

Agradeço aos meus colegas Cristiano Gressana, Isaias Leal, Gabriela Wrublak, Leonardo Giovanetti, pela ajuda e apoio.

Agradeço ao meu orientador professor Dr. José F. Grillo pela paciência e ao tempo dedicado a me orientar.

Agradeço à todos aqueles professores que, de uma forma ou de outra, contribuíram não somente para a formação de uma engenheira agrônoma, mas de uma profissional ética e responsável.

“Uma terra de riquezas é aquela onde se cultiva com trabalho e dedicação.”

R. PORÃ.

RESUMO

As rizobactérias são promotoras de crescimento de planta. A inoculação de sementes de plantas cultivadas com rizobactérias pode se tornar uma excelente alternativa para diminuir os riscos ambientais causados pela utilização inadequada de insumos agrícolas e, até mesmo, aumentar a produtividade das culturas. O experimento foi implantado em Outubro/2016 na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Laranjeiras do Sul-PR, em ambiente controlado, utilizando-se como substrato um LATOSSOLO VERMELHO Distroférico. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados (DIC), com 7 tratamentos com 6 repetições, totalizando 42 unidades. Os tratamentos testados foram: T1: Testemunha – sem inoculação e adição de fontes de N, P e K; T2: Inoculação de *Pseudomonas fluorescens* com adição de fontes de N, P e K; T3: Inoculação de *Pseudomonas fluorescens* com fontes de N e K; T4: Inoculação de *Azospirillum brasilense* com N, P e K; T5: Inoculação de *Azospirillum brasilense* com P e K; T6: Inoculação de *Pseudomonas fluorescens* e *Azospirillum brasilense* com fontes de N, P e K; T7: Inoculação de *Pseudomonas fluorescens* e *Azospirillum brasilense* com apenas fonte de K. Aos 75 dias após a emergência (DAE), foram coletados 21 vasos dos tratamentos testados as quais representavam a média de cada tratamento e determinadas as seguintes variáveis: massa seca foliar (MSF), massa seca de colmo (MSC), massa seca total (MST), número de folhas (NFO), altura de plantas (AP), área foliar (AF), teor de nitrogênio foliar (NF), teor de fósforo foliar (PF), teor de enxofre foliar (SF), teor de cobre foliar (CuF), teor de zinco foliar (ZnF), teor de ferro foliar (FeF), teor de manganês foliar (MnF) e teor de clorofila (CLOR). Aos 120 dias após semeadura (DAS), no final do ciclo da cultura, foi realizada a colheita das espigas para a determinação das variáveis: número de grãos (NG), peso de grãos (PG) e peso de mil grãos (PMG), pH CaCl_2 , fósforo remanescente (P-Rem), fósforo Mehlich-1 (P Meh- 1), fósforo relativo (PR), eficiência de fósforo (Ef-P), nível crítico do fósforo (NiCri-P), enxofre no solo (Ss), teor de cobre (Cus), teores de zinco (Zns), teor de ferro (Fes), teor de manganês (Mns), teor de hidrogênio + alumínio (H+Al), teor de alumínio (Al^{3+}) e teor hidrogênio (H^+), carbono orgânico (Corg). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância. Estatisticamente não houve diferença significativa entre os tratamentos dos seguintes parâmetros: MSF, AP, NF, PF, SF, CuF, ZnF, FeF, MnF, H+Al, Al^{3+} , H^+ , Corg, P-Rem, NiCri-P, Ef-P, Ss, Cus, Zns, Mns. As seguintes variáveis apresentaram diferenças significativas para os tratamentos dos parâmetros a seguir: MSC, MST, NFO, AF, CLOR, NG, PG, PMG, pH CaCl_2 , P-Meh 1, PR, e Ss. Não houve interação/sinergismo entre *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* para as diferentes variáveis consideradas, no tocante a cultura do milho e atributos químicos do solo.

Palavras-chave: Nitrogênio. Fósforo. *Azospirillum brasilense*. *Pseudomonas fluorescens*. *Zea mays* L..

ABSTRACT

As rhizobacteria they are plant growth promoters. Inoculation of plant seeds cultivated with rhizobacteria can become an excellent alternative to reduce environmental risks caused by inadequate use of agricultural inputs and even increase crop productivity. The experiment was implemented in October / 2016 at the Federal University of the Southern Frontier (UFFS), Laranjeiras do Sul-PR, in a controlled environment, using as a substrate a RED Dystroferic LATOSOLO. The experimental design was completely randomized blocks (DIC), with 7 treatments with 6 replicates, totaling 42 experimental units. The treatments tested were: T1: Witness - no inoculation and addition of N, P and K sources; T2: Inoculation of *Pseudomonas fluorescens* with addition of N, P and K sources; T3: Inoculation of *Pseudomonas fluorescens* with N and K sources; T4: Inoculation of *Azospirillum brasilense* with N, P and K; T5: Inoculation of *Azospirillum brasilense* with P and K; T6: Inoculation of *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum brasilense* with sources of N, P and K; T7: Inoculation of *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum brasilense* with only source of K. Twenty-one days after emergence (AED), 21 pots of the treatments were collected which represented the mean of each treatment and the following variables were determined: leaf dry mass (MSF), dry mass of stalk (MSC), total dry mass MS), leaf number (N_{fo}), plant height (AP), leaf area (FA), leaf nitrogen content (NF), leaf phosphorus content (PF), leaf sulfur content (SF) foliar iron content (FeF), leaf manganese content (MnF) and chlorophyll content (CLOR). At 120 days after sowing (DAS) at the end of the crop cycle, the ears were harvested for the determination of the following variables: grain number (NG), grain weight (PG) and weight of one thousand grains (PMG), pH CaCl₂, phosphorus efficiency (Ef-P), critical level of phosphorus (NiCri-P), sulfur in the soil (Ss), copper content (Cus), zinc content (Zns), iron content (Fes), manganese content (Mns), hydrogen + aluminum content (H + Al), aluminum content hydrogen content (H⁺), organic carbon (Corg). The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the means were compared by the Scott-Knott test at the 5% level of significance. There was no statistically significant difference between the treatments of the following parameters: MSF, AP, NF, PF, SF, CuF, ZnF, FeF, MnF, H + Al, Al³⁺, H⁺, Corg, P-Rem, NiCri-P, Ss, Cus, Zns and Mns. The following variables showed significant differences for the treatments of the following parameters: MSC, MST, N_{fo}, AF, CLOR, NG, PG, PMG, pH CaCl₂, P-Meh 1, PR, and Ss. There was no interaction / synergism between *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* for the different variables considered, regarding corn crop and soil chemical attributes.

Keywords: Nitrogen. Phosphorus. *Azospirillum brasilense*. *Pseudomonas fluorescens*. *Zea mays* L..

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atributos químicos e físicos do solo analisado (profundidade de amostragem de 0-20 cm) da área experimental na UFFS (Laranjeiras do Sul, Paraná), anteriormente ao início do período experimental.....	22
Tabela 2 - Doses de nitrogênio, fósforo e potássio utilizadas na adubação de base na cultura do milho. E nitrogênio em cobertura, Laranjeiras do Sul – PR, 2017.....	24
Tabela 3 - Valores médios para as variáveis massa seca foliar (MSF), massa seca do colmo (MSC) e massa seca total (MST).....	26
Tabela 4 - Valores médios das variáveis altura de planta (AP), número de folhas (Nfo), área foliar (AF) e teor de clorofila foliar (CLOR).....	27
Tabela 5 - Valores médios para as variáveis número de grãos (NG), peso dos grãos (PG) e peso de mil grãos (PMG).....	29
Tabela 6 - Valores médios para as variáveis Nitrogênio (N) e Fósforo (P) Foliar.....	30
Tabela 7 - Valores médios para as variáveis Enxofre Foliar (SF), Cobre Foliar (CuF), Zinco Foliar (ZnF), Ferro Foliar (FeF) e Manganês Foliar (MnF).....	31
Tabela 8 - Valores médios para as variáveis: pH CaCl ₂ , Hidrogênio + Alumínio (H+Al), Alumínio (Al ³⁺), Hidrogênio (H ⁺) e Carbono Orgânico (Corg).....	32
Tabela 9 - Valores médios para as variáveis Fósforo Mehlich-1 (P- Meh 1), Fósforo remanescente (P-Rem), Nível Crítico de Fósforo (NiCri-P), Fósforo Relativo (PR) e Eficiência de Fósforo (Ef-P).....	33
Tabela 10 - Valores médios para as variáveis Enxofre (Ss), Cobre (Cus), Zinco (Zns), Ferro (Fes), Manganês (Mns) do solo.....	34

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Resumo das combinações dos diferentes tratamentos testados.....	23
--	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	14
Objetivo geral	14
Objetivos específicos	14
JUSTIFICATIVA	15
REFERENCIAL TEÓRICO	15
O MILHO	15
RIZOBACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA CULTURA DO MILHO	16
<i>Azospirillum brasilense</i>	17
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	18
NITROGÊNIO E FÓSFORO NA CULTURA DO MILHO	19
Nitrogênio	19
Fósforo	20
METODOLOGIA	21
ANÁLISES ESTATÍSTICAS	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
MASSA SECA FOLIAR, MASSA SECA DO COLMO E MASSA SECA TOTAL	25
ALTURAS DE PLANTAS, NÚMEROS DE FOLHAS, ÁREA FOLIAR E TEOR DE CLOROFILA	27
NÚMERO GRÃOS, PESO DE GRÃOS, PESO DE MIL GRÃOS	28
TEORES DE NITROGÊNIO E FOSFÓRO FOLIARES	30
TEORES DE ENXOFRE, COBRE, ZINCO, FERRO E MANGANÊS FOLIARES	31
VALORES DE pH CaCl₂, ACIDEZ POTENCIAL, ALUMÍNIO, HIDROGÊNIO E CARBONO ORGÂNICO DO SOLO	31
VALORES DE FÓSFORO MEHLICH-1, NÍVEL CRÍTICO DE FÓSFORO, FÓSFORO RELATIVO, EFICIÊNCIA DE FÓSFORO E FÓSFORO REMANESCENTE DO SOLO ..	32
VALORES DE ENXOFRE, COBRE, ZINCO, FERRO, MANGANÊS, DO SOLO	34
CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1 INTRODUÇÃO

A busca por altos índices de produções na cultura do milho, dado o grande consumo desse cereal seja na indústria, ou nas diversas formas de alimentação humana e animal, traz consigo altos índices de utilização de fertilizantes químicos, tentando suprir as necessidades minerais da cultura. A utilização de bactérias benéficas pode influenciar na diminuição de gastos e prejuízos com o manejo de adubação na cultura do milho por ser uma tecnologia extremamente eficiente na substituição de manejos tradicionais de adubação, sem comprometer a produtividade da cultura que é o que mais interessa ao agricultor (ARRUDA, 2012).

A utilização de rizobactérias compreende uma tecnologia limpa por não prejudicar o meio ambiente e, na atualidade, a busca por tecnologias menos agressivas é grande, demonstrando uma técnica viável e que não interfere no equilíbrio ecológico quando utilizada corretamente. Além disso, o uso da técnica aumenta a eficiência e disponibilidade do fósforo, que é um dos elementos que mais limita a produção agrícola (OLIVEIRA et al., 2012). A inoculação com estes microrganismos estimulam o crescimento e o aumento de produtividade (GLICK et al., 2007).

As rizobactérias podem ser empregadas como promotoras do crescimento radicular, reduzindo o uso de insumos, constituindo uma técnica sustentável (ZUCARELI et al., 2011). Isto favorece o crescimento de raízes do milho, pela colonização de determinadas bactérias na rizosfera, como as do gênero *Pseudomonas* spp. e *Azospirillum* spp, que promovem o crescimento das plantas e favorecem a solubilização de fosfatos minerais, auxiliando na mineralização de elementos e na produção da auxina e giberelina, fitormônios responsáveis pelo crescimento (COELHO, 2006).

De acordo com Andreola e Fernandes (2007) esses microrganismos tornam disponíveis a planta uma série de nutrientes, auxiliando no processo de mineralização. A eficiência microbiana em armazenar nutrientes em sua biomassa, os valores podem chegar até 100 kg ha⁻¹, 80 kg ha⁻¹ e 70 kg ha⁻¹ de N, P e K, respectivamente, demonstrando a importância de utilização desses microrganismos já que, em condições ideais, esses nutrientes ficam disponíveis para a planta gradativamente.

A eficiência de uma lavoura está ligada a diversos fatores, dentre eles a disponibilidade de nutrientes minerais às cultivares. O incremento desses nutrientes no solo é de grande importância, pois são responsáveis por elevados custos de produção (FAGERIA, 1998). O milho é uma das culturas mais exigentes em fertilizantes, especialmente os

nitrogenados e fosfatados. (VITTI et al., 2004). O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae e é uma espécie originária da América do Norte, com centro de origem genética no México, geralmente sendo consumido *in natura* para alimentação de animais e humanos, tendo ainda uma diversificada utilização industrial. Sendo assim, o milho é um dos cereais mais cultivados no planeta devido ao seu alto potencial produtivo e ao seu valor nutritivo (ANDRADE et al., 2006). A produção de milho na primeira safra do ano de 2016 atingiu os 5.387,7 mil hectares plantados. A produção atingiu 25.853,6 mil toneladas do grão, com produtividade média de 4.999 kg ha⁻¹ plantado. A produção desta safra teve um decréscimo de 14,1 %. Essa queda foi reflexo das dificuldades dos agricultores em financiar os custos da lavoura (CONAB, 2016).

Diversos fatores podem resultar em uma alta ou baixa produtividade na safra do milho, entre elas a baixa disponibilidade de P, dada a alta concentração deste elemento em formas indisponíveis para a planta, adsorvidos aos colóides presentes no solo. A participação do fósforo nesta planta pode influenciar no crescimento de folhas, e desta maneira haverá uma redução na área fotossintetizante, resultando em menores produções, afetando o crescimento de raízes e reduzindo a capacidade de absorção de elementos essenciais para o vegetal (OLIVEIRA et al., 2012).

Segundo Pacheco e Damásio (2014), a utilização demasiada de adubações fosfatadas para suprir a necessidade do elemento à planta, quando feita de maneira incorreta, é um manejo prejudicial já que 90% do P aplicado ficam indisponíveis. A utilização de microrganismos inoculados nas raízes pode auxiliar na absorção do fósforo na prática da agricultura.

O nitrogênio (N) é o nutriente mineral que exerce maior influência na produtividade de grãos e também o que mais onera o custo de produção (SILVA et al., 2005). Além da necessidade de reduzir custos com adubação nitrogenada, também é crescente a preocupação com a poluição dos recursos hídricos e da atmosfera causados pelo uso inadequado de fertilizantes nitrogenados, em virtude da instabilidade desse nutriente, o que pode deixá-lo sujeito a perdas por erosão, lixiviação, volatilização e desnitrificação (LARA CABEZAS et al., 2000). Assim como o nitrogênio, o fósforo (P) também desempenha importante papel no crescimento e no desenvolvimento da planta (TAIZ & ZEIGER, 2006). A fertilização com N e P é, na maioria das vezes, o fator mais limitante para altas produtividades. Estes nutrientes são determinantes no potencial fotossintético da cultura do milho e, por sua vez, na produtividade (GRAZIA et al., 2003). O P em quantidades adequadas estimula o desenvolvimento radicular (FAGERIA, 1998).

Os solos em sua grande maioria são ricos em P, todavia apresentam-se com maior ou menor estabilidade, ligados à compostos de alumínio, ferro e cálcio. A maneira destes compostos em que o P se apresenta, tem ligação direta com a cobertura vegetal presente, e os manejos agronômicos utilizados (ROTTA, 2012). O fósforo está presente nos componentes estruturais dos tecidos vegetais, a exemplo dos fosfolipídios. Participa do processo de respiração e fotossíntese, como forma de energia prontamente disponível para as reações metabólicas na forma de adenosina trifosfato (ATP) (TAIZ & ZEIGER, 2006).

Neste trabalho foi avaliado se existe sinergismo ou antagonismo na associação de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* e se esse sinergismo proporcionou a redução da alta dependência da adubação nitrogenada e fosfatada na cultura do milho. Analisando as rizobactérias dos gêneros *Azospirillum* spp. para fixarem N biologicamente e a do gênero *Pseudomonas* para solubilizarem Fósforo (P) adsorvido aos coloides do solo, possivelmente serem uma forma alternativa de se reduzir os custos de produção da cultura do milho e proporcionar sua menor dependência de adubos químicos nitrogenados e fosfatados.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Identificar uma maneira de aumentar absorção de nutrientes pela associação das rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* no desenvolvimento da cultura do milho.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Determinar a fixação biológica de Nitrogênio pelo *Azospirillum brasilense* na cultura do milho.
- b) Avaliar o sinergismo ou antagonismo em função da associação de *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*.
- c) Avaliar a influência do uso de rizobactérias (*Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*), sobre o crescimento, desenvolvimento e rendimento da cultura do milho.
- d) Determinar a solubilização de fósforo não-lábil do solo para a cultura do milho pela *Pseudomonas fluorescens*.

1.2 JUSTIFICATIVA

A utilização de bactérias benéficas pode influenciar na diminuição de gastos e prejuízos com o manejo de adubação na cultura do milho por ser uma tecnologia extremamente eficiente na substituição de manejos tradicionais de adubação, sem comprometer a produtividade da cultura que é o que mais interessa ao agricultor. O uso das bactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens*, uma para fixar nitrogênio e a outra para disponibilizar fósforo é uma alternativa se obter esses elementos, assim, reduzir os custos de produção e impactos ambientais provocados por adubos químicos na cultura. Esta prática agroecológica vem contribuindo e evitando contaminações em bacias hidrográficas, reduzindo a dependência de insumos externos e poupando as energias que são finitas. Desta forma, o benefício proporcionado através dos resultados obtido neste estudo é muito gratificante, pois as pesquisas tem apenas uma finalidade o bem estar do meio ambiente e daqueles que fazem parte dele.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O MILHO

O suprimento inadequado de nitrogênio é considerado um dos principais fatores limitantes ao rendimento de grãos do milho, pois o mesmo exerce importantes funções nos processos bioquímicos da planta. Ao lado do nitrogênio, a deficiência do fósforo também limita a produtividade da cultura, sendo esta mais exigente a fósforo por ocasião da formação e desenvolvimento dos grãos. O fósforo está relacionado com o crescimento das raízes, maturação de frutos, formação de grãos, frutos e fibras e vigor das plantas (VITTI et al., 2004).

Uma agricultura sustentável requer a utilização de estratégias que permitam o aumento da produção de alimentos sem prejuízos ao meio ambiente e saúde, dentro do contexto econômico, político e social de cada região (MARIANO et al., 2004)

Entre as alternativas na busca de sistemas sustentáveis de produção de milho, visando redução na aplicação e no aumento da eficiência de utilização do N, destaca-se o uso de bactérias capazes de promoverem a fixação biológica de N (FBN). Esses microrganismos, chamados diazotróficos, são capazes de reduzir o N atmosférico (N_2) à amônia (NH_3^+) pela quebra da ligação tríplice do N pela enzima nitrogenase, com alto consumo de energia na

forma de ATP. Após a reação de redução, a amônia é rapidamente convertida a amônio (NH_4^+), nitrito, nitrato e que é assimilado pela célula vegetal sob a forma de glutamina. A FBN é complexa e depende da expressão de um conjunto de genes que codificam as proteínas envolvidas no processo (REIS E TEIXEIRA, 2005).

A FBN é alterada pelo amônio, pois a enzima nitrogenase, que é a responsável pela redução do N_2 é inativada quando submetida a sua presença (RUDNIK et al., 1997). Em áreas não perturbadas, com vegetação clímax, a fixação de nitrogênio é pouco estimulada, visto que a ciclagem eficiente garante a manutenção do metabolismo e da taxa de crescimento, porém, em áreas degradadas em solos e substratos pobres ou desprovidos de matéria orgânica como os de áreas mineradas, ela pode ser estimulada (MOREIRA et al., 2010).

De acordo com Arruda (2012), o nitrogênio é o que mais limita o crescimento e desenvolvimento do vegetal. O nitrogênio atmosférico (N_2) não é assimilável para a planta, desta maneira se faz necessário converter esta molécula em amônia (NH_3) e depois amônio (NH_4^+) para que a planta possa assimilar. Esse processo é o chamado fixação biológica de nitrogênio (FBN), o qual pode ser demonstrado na seguinte equação: $\text{N}_2 + 8 \text{H} + 8 \text{e}^- + 16 \text{ATP} \rightarrow 2 \text{NH}_3 + \text{H}_2 + 16 \text{ADP} + 16 \text{Pi}$. A reação para ocorrer é de extrema necessidade o Ferro (Fe), outro elemento que como o nitrogênio é essencial para a planta, já que é responsável também por formar o complexo enzimático nitrogenase que codifica proteínas essenciais para a FBN.

Segundo Freitas e Rodrigues (2010), a utilização de bactérias capazes de fazer esse processo, é extremamente importante para plantas da família Poaceae, como o milho, por reduzir os custos de adubação e diminuir os efeitos ambientais maléficos de uma agricultura com intensa utilização de fertilizantes químicos. Já Basi (2013) relata que a utilização de bactérias diazotróficas influencia no crescimento da planta através da produção de auxinas, giberelinas e citocininas que ajudam no crescimento radicular induzindo um maior aproveitamento de água e de minerais disponíveis no solo.

2.2 RIZOBACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA CULTURA DO MILHO

As rizobactérias são promotoras de crescimento de plantas (AGRA, 2007) e são encontradas na rizosfera, na superfície ou em associação com as raízes (GALDIANO JR, 2009). Essas bactérias podem ser benéficas, como, por exemplo, as rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs), patogênicas ou neutras para as plantas (COELHO, 2006). Uma das alternativas potenciais para atingir este objetivo é o uso de rizobactérias que são de

fácil aplicação em tratamento de sementes e são nativas do solo, não interferindo no equilíbrio ecológico e enquadrando-se na realidade das tecnologias limpas, ou seja, na viabilização da agricultura sustentável com a maximização da produção de alimentos com menos gastos e uso de insumos agrícolas (OLIVEIRA, et al., 2012).

Diversos processos são mediados por microrganismos do solo desempenhando papel importante na ciclagem de nutrientes. Um desses processos é a fixação biológica de nitrogênio atmosférico, que é realizada por microrganismos procarióticos conhecidos como diazotróficos. Os diazotróficos podem ser de vida livre, estarem associados às espécies vegetais ou, ainda, estabelecerem simbiose com as leguminosas. Os estudos com bactérias diazotróficas são de grande importância, devido à contribuição destas para o fornecimento de nitrogênio a diversos ecossistemas, natural ou manejado (MOREIRA et al., 2010).

As bactérias diazotróficas são aquelas capazes de fixar o nitrogênio atmosférico (BHATTACHARJEE et al., 2008). As bactérias diazotróficas associativas são encontradas em diferentes espécies vegetais, incluindo diferentes representantes da família Poaceas, tais como arroz, milho e cana-de-açúcar (MOREIRA et al., 2010).

Além de fixar o nitrogênio atmosférico, estas bactérias são descritas por serem capazes de produzir hormônios vegetais (BALDANI & BALDANI, 2005), solubilizar fosfato (MOREIRA et al., 2010), atuar como antagônicas a espécies patogênicas (HUNGRIA, 2011), além de poderem influenciar o metabolismo nitrogenado da planta, sendo considerada como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas - RPCP (JAMES & BALDANI, 2012).

Dentre os hormônios vegetais produzidos pelas RPCP, destaca-se a síntese de ácido indolacético e de outros compostos indólicos (BHATTACHARYYA & JHA, 2012). O crescimento vegetal promovido por estas bactérias deve-se à combinação de um ou mais dos seguintes fatores: produção de fitohormônios, fixação biológica de nitrogênio, controle biológico de patógenos, solubilização de fósforo inorgânico e outros nutrientes e mineralização de fósforo orgânico. Além disso, a inoculação de sementes de plantas cultivadas com rizobactérias pode se tornar uma excelente alternativa para diminuir os riscos ambientais causados pela utilização inadequada de insumos agrícolas e, até mesmo, aumentar a produtividade das culturas (OLIVEIRA et al., 2003).

O milho pode ser considerado uma cultura promissora com grande potencial a ser explorado em termos de viabilidade da inoculação, pois pode ser colonizado simultaneamente por grande diversidade de bactérias diazotróficas (ROESCH et al., 2007).

2.2.1 *Azospirillum brasilense*

As bactérias do gênero *Azospirillum* ssp., são microrganismos diazotróficos, aeróbicos, capazes de se associar endofiticamente com plantas de interesse agrícola (CASTELLEN, 2005), sendo capazes de viver no interior da planta sem induzi-la a uma resposta de defesa à sua presença (SALA et al., 2007).

Bactérias diazotróficas endofíticas em gramíneas possuem penetração passiva na planta, acessando o seu interior através de ferimentos, de sítios de emergência de raízes, coifa e estômatos nas folhas, espalhando-se pelos tecidos radiculares via apoplasto, colonizando os espaços intercelulares das células da hipoderme, córtex radicular e parede do aerênquima (PERIN et al., 2003).

Um resumo dos efeitos benéficos dos *Azospirillum brasilense* para as plantas pode ser caracterizado como: estímulo ao aumento da densidade e comprimento dos pelos absorventes das raízes; incrementos na velocidade de aparecimento de raízes laterais e do volume de superfície radicular; alteração da respiração das raízes e das atividades de enzimas da via glicolítica e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos; produção de nitritos; aumento na absorção de nutrientes (OKON & LABANDERA-GONZALES, 1994) e sinais moleculares que interferem no metabolismo das plantas (BASHAN & HOLGUIN, 1997).

Uma das principais limitações à utilização do *Azospirillum brasilense* na cultura do milho é a inconsistência dos resultados de pesquisa, que variam de acordo com a cultivar, as condições edafoclimáticas e a metodologia de condução dos ensaios (BARTCHECHEN et al., 2010)

2.2.2 *Pseudomonas fluorescens*

As bactérias do gênero *Pseudomonas* têm recebido especial atenção pela sua capacidade em promover o crescimento vegetal, especialmente pela sua habilidade em melhorar a nutrição fosfatada das plantas pela solubilização de fosfato inorgânico (AFZAL e BANO, 2008) e, ainda, em promover o crescimento do sistema radicular, que facilita a absorção de água e nutrientes. (OLIVEIRA, et al., 2015).

As *Pseudomonas fluorescens* aplicadas em tratamento de sementes estimulam o crescimento das plantas de milho, potencializam a absorção e a disponibilização do P para a nutrição da cultura, e, conseqüentemente, maximizam a produção e a qualidade nutricional dos grãos. (OLIVEIRA, 2010).

Uma alternativa para reduzir custos e diminuir riscos ambientais causados pela utilização inadequada de fertilizantes e defensivos é a produção de inoculantes de baixo custo com rizobactérias, como por exemplo, a *Pseudomonas fluorescens*, promotoras do crescimento de plantas (HUMPHRIS et al., 2005; COELHO et al., 2007). É preciso testá-la em condições mais adversas, ou seja, em solos com baixos teores de fósforo, onde será mais bem observada a capacidade dessas rizobactérias de disponibilização do fósforo para a planta (ZUCARELI, et al, 2011).

2.3 NITROGÊNIO E FÓSFORO NA CULTURA DO MILHO

2.3.1 Nitrogênio

O N é fundamental no metabolismo vegetal, com participação na biossíntese de proteínas e clorofila. Comumente, o aumento das doses aplicadas na cultura gera aumentos consideráveis de produtividade. É o macronutriente absorvido e exportado em maiores taxas na cultura do milho (COELHO, 2008).

Embora o nitrogênio gasoso (N_2) constitua 78% dos gases atmosféricos, nenhum animal ou planta consegue utilizá-lo como nutriente, devido à tripla ligação que existe entre os dois átomos do N_2 , que é uma das mais fortes de que se tem conhecimento na natureza. Contudo, os gases atmosféricos também se difundem para o espaço poroso do solo e o N_2 consegue ser aproveitado por alguns microrganismos (algumas arqueobactérias, mas principalmente bactérias) que ali habitam. Isto ocorre graças à ação de enzima chamada dinitrogenase que é capaz de romper a tripla ligação do N_2 e reduzi-lo a amônia (NH_3), a mesma forma obtida no processo industrial. Essas bactérias, também denominadas como diazotróficas ou fixadoras de N_2 , se associam a diversas espécies de plantas em diferentes graus de especificidade, levando à classificação como bactérias associativas, endofíticas ou simbióticas (HUNGRIA et al., 2007).

O N é um dos principais componentes das biomoléculas, estando presente na estrutura de ácidos nucléicos, aminoácidos, proteínas, entre outros, sendo essencial ao crescimento e desenvolvimento dos organismos. Em condições naturais, o N entra no sistema através da fixação biológica e/ou pela decomposição de resíduos de animais e vegetais. Do N contido no solo, cerca de 90% está presente na matéria orgânica numa forma estável, porém não disponível para as plantas. Este se torna disponível lentamente e em quantidades insuficientes para satisfazer as exigências das plantas de milho em crescimento (BARROS NETO, 2008).

Diversos processos são mediados por microrganismos do solo desempenhando papel importante na ciclagem de nutrientes. Um desses processos é a fixação biológica de nitrogênio (FBN) atmosférico, que é realizada por microrganismos procarióticos conhecidos como diazotróficos. Os diazotróficos podem ser de vida livre, estarem associados a espécies vegetais ou, ainda, estabelecer simbiose com leguminosas. Os estudos com bactérias diazotróficas são de grande importância, devido à contribuição destas para o fornecimento de nitrogênio à diversos ecossistemas, naturais ou manejados. (MOREIRA et al, 2010).

A exploração e a utilização da FBN em sistemas agrícolas visando à substituição ou, ao menos, a complementação do N fornecido por meio de fertilizantes industriais é uma estratégia interessante. O investimento na pesquisa e difusão da FBN, através de estudos multidisciplinares e integrados em áreas como microbiologia, ciência do solo, melhoramento de plantas, manejo de culturas, etc., pode trazer um grande benefício para o planeta, aumentando a produção de alimentos, reduzindo o uso de combustíveis fósseis e freando a contaminação dos recursos hídricos e da atmosfera (JUNIOR & MENDES, 2008).

2.3.2 Fósforo

Nos solos do Brasil é encontrado em baixas quantidades que vão de 0,005% a 0,5% na profundidade de 0 a 20 cm. Além de estar presente em baixas quantidades a sua absorção pelas plantas pode ser dificultada quando este é complexado, ligado ao alumínio, ferro e cálcio, ou quando se encontra nas camadas mais profundas do solo, sendo que a absorção pela planta se dá principalmente pela interceptação radicular. Além disto, quando se realiza a adubação fosfatada há uma perda por lixiviação em torno de 10%. Por isso, é interessante uma alternativa para um melhor aproveitamento do fósforo, reduzindo os danos ambientais e maximizando sua disponibilidade para as plantas (MALAVOLTA, 2006).

A deficiência de fósforo no solo diminui o aparecimento, a expansão e a longevidade das folhas, reduzindo, assim, o índice da área foliar e a interceptação da radiação solar. Dessa forma, ocorre redução no rendimento final de grãos (FLETCHER et al., 2008).

A adubação fosfatada para a cultura do milho é uma prática dispendiosa. Existem duas estratégias básicas de manejo da adubação fosfatada para o milho. A primeira objetiva aumentar a disponibilidade de P no solo pela adubação de correção e a segunda visa manter a fertilidade do solo pela adubação de manutenção (COELHO & ALVES, 2004).

O esgotamento das reservas mundiais bem como aumento das áreas de cultivo faz com que as estratégias de manejo com o intuito de aumentar a disponibilidade deste elemento às

plantas, sejam fundamentais na manutenção do sistema agrícola (REZENDE, 2007). O uso demasiado de fertilizantes para suprir o problema da baixa disponibilidade de fósforo exerce forte impacto econômico e ambiental, visto que os processos químicos para a produção desses fertilizantes são de custo elevado, em termos energéticos, além de utilizarem fontes não renováveis e finitas de energia (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2008). O uso eficiente de fertilizantes fosfatados engloba a adoção de conjunto de boas práticas que afetam diretamente a disponibilidade de P no solo e seu uso pelas culturas (SOUSA et al., 2010).

3 METODOLOGIA

O experimento foi realizado na área experimental da Universidade Federal da Fronteira Sul-UFFS, Campus Laranjeiras do Sul, a qual está localizada nas proximidades da BR-158, sentido Rio Bonito do Iguaçu. O solo predominante na região é um LATOSSOLO VERMELHO Distroférico. A temperatura da casa de vegetação com variação de 25° a 28°C.

Inicialmente foi realizada a coleta do solo para análise seguindo as recomendações do IAPAR (1996) e enviado a laboratório para as determinações química e física. Com base nos resultados da análise de solo (Tabela 1), foram realizados os cálculos de calagem adubação de base e cobertura de acordo com as recomendações do IAPAR (2003) para a cultura do milho. No caso da calagem foi utilizada a dose de 5,2598 t ha⁻¹.

Tabela 1 - Atributos químicos e físicos do solo analisado (profundidade de amostragem de 0-20 cm) da área experimental na UFFS (Laranjeiras do Sul, Paraná), anteriormente ao início do período experimental

pH CaCl ₂	4,2
P – Mehlich (mg dm ⁻³)	2,7
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,05
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,2
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,2
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,0
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	8,57
SB (cmol _c dm ⁻³)	2,48
Matéria Orgânica (g dm ⁻³)	38,1
CTC (pH 7,0)	11,05
V%	22,4
S (mg dm ⁻³)	9,3
B (mg dm ⁻³)	0,37
Fe ²⁺ (mg dm ⁻³)	70,3
Cu ²⁺ (mg dm ⁻³)	2,8
Mn ²⁺ (mg dm ⁻³)	362,0
Zn ²⁺ (mg dm ⁻³)	0,9
Fração Argila (g kg ⁻¹)	490
Fração Silte (g kg ⁻¹)	260
Fração Areia (g kg ⁻¹)	250
P-Rem (mg L ⁻¹)	18,6
Classe Textural	Argilosa

*Resultados da análise química e física do solo coletado na área experimental.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados (DIC), com 7 tratamentos, 6 repetições, totalizando 42 unidades experimentais (vasos de polietileno com capacidade de 21 litros), os tratamentos consistiram na combinação de formas de inoculação das sementes de milho com *Pseudomonas fluorescens* e *Azospirillum brasilense* (com e sem inoculação) e formas de adubação. As sementes foram inoculadas à sombra, momentos antes da semeadura do milho.

No Quadro 1 encontram-se de forma simplificada as combinações dos diferentes tratamentos testados.

Quadro 1 – Resumo das combinações dos diferentes tratamentos testados.

	R1	R2	N	P	K
T1			X	X	X
T2		X	X	X	X
T3		X	X		X
T4	X		X	X	X
T5	X			X	X
T6	X	X	X	X	X
T7	X	X			X

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Os tratamentos consistiram em: T1(NPK); T2 (R2+NPK); T3(R2+NK); T4(R1+NPK); T5(R1+PK); T6(R1+R2+NPK) e T7(R1+R2+K).

O experimento foi implantado em outubro/2016, em ambiente controlado (casa de vegetação), utilizando-se como substrato um LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico (EMBRAPA, 2006).

Então foi realizada a semeadura do milho utilizando-se a variedade PIONNER 3431VYH (a mais indicada para a região da área experimental), iniciando-se na primeira quinzena de novembro/2016. De acordo com os tratamentos propostos, as sementes de milho foi previamente tratadas com 2 inoculantes a base das bactérias (i) *Pseudomonas fluorescens* a quantidade usada foi de acordo com Zucareli et al. (2011), ou seja, 140 ml ha⁻¹ e (ii) *Azospirillum brasilense* que foi misturadas nas sementes, utilizando o produto comercial Masterfix Gramíneas, na dose de 5 mL kg⁻¹ de sementes, equivalente à dose recomendada pelo fabricante de 100 mL do inoculante comercial por ha⁻¹. As sementes foram acondicionadas em sacos plásticos para receber os inoculantes sendo o procedimento realizado a sombra. A homogenização da solução contendo as sementes foi realizada através de agitação. Após a inoculação, inicialmente foi semeadas 5 sementes viáveis vaso⁻¹ (unidade experimental). Nove dias após a semeadura (DAS) foi realizado o desbaste deixando-se apenas 2 plantas uniformes vaso⁻¹. Os vasos foram irrigados automaticamente 3 vezes ao dia, ao longo do período experimental.

A adubação de base (semeadura) foi de acordo com a análise de solo, portanto foi utilizado N (Sulfato de amônio), P (Superfosfato simples) e K (Cloreto de potássio). Após a

implantação da cultura do milho, caso seja necessário, foi realizados tratos culturais convencionais para o controle de plantas invasoras e pragas.

As dosagens de fertilizantes contendo nitrogênio, fósforo e potássio, utilizado na adubação de base da cultura do milho foram: i) 0 e 40 kg ha⁻¹ de N; ii) 0 e 90 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e iii) 70 kg ha⁻¹ de K₂O. Como fontes foram utilizados sulfato de amônio (21% de N e 24% S), superfosfato triplo (46% de P₂O₅) e cloreto de potássio (60% de K₂O), como consta na Tabela 2 abaixo. E em cobertura foi aplicado 120 kg ha⁻¹ de Uréia. (Tabela 2).

Tabela 2 - Doses de nitrogênio, fósforo e potássio utilizadas na adubação de base na cultura do milho. E nitrogênio em cobertura, Laranjeiras do Sul – PR, 2017

Tratam.	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	S	N Cobert.
	------(kg ha ⁻¹)-----				
T1(NPK)	40	90	70	9,6	120
T2 (R2+NPK)	40	90	70	9,6	120
T3(R2+NK)	40	0	70	9,6	120
T4(R1+NPK)	40	90	70	9,6	120
T5(R1+PK)	0	90	70	0,0	0
T6(R1+R2+NP)	40	90	70	9,6	120
T7(R1+R2+K)	0	0	70	0,0	0

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Aos 75 dias após a emergência (DAE), foram coletadas 42 plantas dos tratamentos testados as quais representaram a média de cada tratamento, sendo 21 unidade experimental (cada unidade experimental com 2 plantas de milho), onde foram consideradas as seguintes variáveis: massa seca foliar (MSF), massa seca de colmo (MSC), massa seca total (MST), altura de plantas (AP), número de folhas (NFO), área foliar (AF), teor de clorofila (CLOR), teor de nitrogênio foliar (NF), teor de fósforo foliar (PF), teor de potássio foliar (KF), teor de cálcio (CaF), teor de magnésio foliar (MgF), teor de enxofre foliar (SF), teor de cobre foliar (CuF), teor de zinco foliar (ZnF), teor de ferro foliar (FeF) e teor de manganês foliar (MnF).

Aos 120 dias após semeadura (DAS), foram coletadas 42 plantas dos tratamentos testados as quais representaram a média de cada tratamento, sendo 21 unidade experimental (cada unidade experimental com 2 plantas de milho), no final do ciclo da cultura, foram realizada a colheita das espigas para a determinação do número de grãos (NG), peso de grãos (PG), peso de mil grãos (PMG). Nesta ocasião também foram coletadas amostras de solos

para a determinação da análise química das seguintes variáveis: fósforo Mehlich-1 (P), pH em CaCl_2 , fósforo remanescente (P-Rem), eficiência da adubação fosfatada (Ef-P), nível crítico de fósforo (NiCri-P), fósforo relativo (PR), acidez potencial ou de reserva (H^+Al), alumínio (Al^{3+}), hidrogênio (H^+) e carbono orgânico (Corg).

3.1 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância. Sendo utilizado o programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MASSA SECA FOLIAR, MASSA SECA DO COLMO E MASSA SECA TOTAL

Na Tabela 3 estão contidos as médias de MSF, MSC e MST. Estatisticamente não houve diferença significativa entre os tratamentos testados para MSF. Porém, as variáveis MSC e MST apresentaram diferenças significativas.

Tabela 3 - Valores médios para as variáveis: massa seca foliar (MSF), massa seca do colmo (MSC) e massa seca total (MST)

Tratamentos	MSF	MSC	MST
	----- (g vaso ⁻¹) -----		
T1(NPK)	51,95 a	94,54 a	146,50 a
T2 (R2+NPK)	47,83 a	74,47 a	122,31 ab
T3(R2+NK)	39,41 a	43,12 b	82,53 b
T4(R1+NPK)	37,02 a	89,05 a	126,07 ab
T5(R1+PK)	37,62 a	45,78 a	83 41 b
T6(R1+R2+NPK)	49,34 a	89,43 b	138,77 a
T7(R1+R2+K)	35,07 a	31,42 b	66,49 c
CV (%)	23,85	23,90	16,30

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Notas: * Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

** CV%: Coeficiente de Variação.

A variável MSC os tratamentos T1, T2, T4, T5 não diferiram entre si, mas diferiram do restante dos tratamentos. Os tratamentos T3, T6, T7 não diferem entre si.

Na MST os tratamentos T1, T2 T4 e T6 não diferiram entre si, mas sim do restante dos tratamentos. Porém os T2 e T4 também não diferiram do T3 e T5. O tratamento T7 apresentou o menor valor de MST (66,49 g vaso⁻¹) diferenciando estatisticamente dos demais tratamentos.

Oliveira et al. (2012) avaliando efeito de doses do fósforo na cultura do milho híbrido 30f35, cultivados em vasos plásticos, inoculado e não inoculado com *Pseudomonas fluorescens*, observamos que a diferença significativa para produção de massa da matéria seca de folha e massa da matéria seca de caule, obtiveram resultados iguais para MSF e diferente para a MSC com relação ao nosso trabalho.

Colaborando com nosso trabalho, Didonet et al. (1996) afirma ter encontrado muitas evidências de que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* seja responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca, principalmente na presença de elevadas dosagens de nitrogênio, indicando relação com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio.

4.2 ALTURA DE PLANTAS, NÚMEROS DE FOLHAS, ÁREA FOLIAR E TEOR DE CLOROFILA.

Na Tabela 4 observamos que altura de planta (AP) não deferiu estatisticamente entre seus tratamentos. Porém, o número de folhas (NFO), área foliar (AF) e teor de clorofila foliar (CLOR) apresentaram diferenças significativas para os tratamentos testados.

Tabela 4 - Valores médios das variáveis altura de planta (AP), número de folhas (NFO), área foliar (AF) e teor de clorofila foliar (CLOR)

Tratamento	AP (m)	NFo (Unidade)	AF (cm ²)	CLOR (ICF)
T1(NPK)	2,13 a	10,83 b	4078,20 a	28,48 a
T2 (R2+NPK)	2,13 a	10,33 bc	3075,22 b	19,46 b
T3(R2+NK)	1,62 a	10,33 bc	1990,95 c	20,13 b
T4(R1+NPK)	1,89 a	10,50 b	3942,17 a	16,85 b
T5(R1+PK)	1,81 a	11,16 a	2444,10 c	11,35 b
T6(R1+R2+NPK)	2,07 a	11,33 a	4139,82 a	25,23 a
T7(R1+R2+K)	1,39 a	10,00 c	1328,34 d	27,41 a
CV (%)	18,50	7,25	15,59	21,79

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Notas: * Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

** CV%: Coeficiente de Variação.

Zucareli et al. (2011) não detectaram, em estudo relativo à eficiência agrônômica do inoculante à base de *Pseudomonas fluorescens* em plantas de milho conduzido a campo alteração na altura de planta, colaborando com os resultados obtidos no presente estudo. Os autores obtiveram um valor baixo em sua dispersão amostral nos resultados de altura de planta, ocorrendo alta homogeneidade com o coeficiente de variação de 2,12%, enquanto neste trabalho teve 18,50 %. Dartora et al. (2013) e Lana et al. (2012) não obtiveram respostas para a altura de plantas inoculadas com *A. brasilense* associada à adubação nitrogenada, assim como os resultados obtidos no presente trabalho.

O Numero de Folhas (NFO) (Tabela 4), o T5 e T6 não deferiram entre si, sendo superiores aos demais tratamentos. Os tratamentos T1, T2, T3 e T4 não deferiram entre si, porém T2 e T3 não diferiram de T7.

No parâmetro AF (Tabela 4) os tratamentos T1, T4, T6 não diferiram entre si mais foram superiores aos demais tratamentos, onde T2 diferiu dos outros tratamentos (T3, T5 e T7) porém T3 e T5 não diferiram entre si mas foram superiores ao T7.

A variável teor de clorofila (CLOR) (Tabela 4), os tratamentos T1, T6 e T7 superiores aos demais, porém não diferiram significativamente entre si. Os demais tratamentos (T2, T3, T4 e T5) não diferiram entre si. Jordão et al. (2010) observaram diferença significativa entre os tratamentos em relação ao teor de clorofila nas folhas no milho, medido com o clorofilômetro, corroborando com os resultados deste trabalho. A clorofila é um importante parâmetro de absorção de nitrogênio, pois a sua molécula apresenta quatro átomos de nitrogênio no núcleo central, onde ocorre a absorção de radiação solar (TAIZ & ZEIGER, 2004). Está diretamente associada ao potencial de atividade fotossintética, assim como o estado nutricional das plantas está associado, geralmente, a quantidade e qualidade da clorofila (ZORARELLI et al., 2003). O teor de clorofila na folha é utilizado para prever o nível nutricional de nitrogênio em plantas, devido ao fato da quantidade desse pigmento correlacionar-se positivamente com teor de N (BOOIJ et al., 2000).

4.3 NÚMERO GRÃOS, PESO DE GRÃOS E PESO DE MIL GRÃOS.

Todos os três parâmetros, número de grãos (NG), peso de grão (PG) e peso de mil sementes (PMG) estatisticamente apresentaram diferença significativa em função dos tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios para as variáveis número de grãos (NG), peso dos grãos (PG) e peso de mil grãos (PMG)

Tratamentos	NG		PG		PMG	
	(unidade)		----- (g) -----			
T1(NPK)	25,00	b	10,29	b	272,46	a
T2 (R2+NPK)	25,00	b	5,48	b	308,68	a
T3(R2+NK)	14,00	b	3,49	b	83,60	b
T4(R1+NPK)	141,33	a	23,56	a	242,21	a
T5(R1+PK)	0,00	b	0,00	c	0,00	b
T6(R1+R2+NPK)	185,66	a	35,06	a	208,44	a
T7(R1+R2+K)	0,66	b	0,12	b	60,55	b
CV (%)	130,05		91,15		75,93	

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Notas: * Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

** CV%: Coeficiente de Variação.

A variável NG os tratamentos T4 e T6 apresentaram os maiores valores, não diferindo entre si, porém diferiram dos demais tratamentos testados.

O mesmo ocorreu para a variável PG, ou seja, os tratamentos T4 e T6 não deferiram entre si, mas sim dos outros tratamentos (T1, T2, T3 e T7), onde o T7 deferiu-se estatisticamente de todos os outros tratamentos, apresentando o menor valor de PG (0,12 g).

Os tratamentos T1, T2, T4, T6 não deferiram entre si para a variável PMG, mas deferiram dos demais tratamentos (T3, T5 e T7).

Os dados de Gonçalves Júnior et al. (2008) corroboram com os obtidos neste trabalho quando afirmam que as variáveis número de grãos por espiga, massa de 1.000 grãos e produtividade de grãos de milho, apresentaram incrementos na presença de adubados com NPK. Amaral Filho et al. (2005) também perceberam que a adubação nitrogenada aumentou linearmente o número de grãos por espiga e na massa de 1.000 grãos de milho cultivado na primeira safra no sistema de plantio direto, vindo de encontro com os dados obtidos neste trabalho. Araújo et al. (2015) não verificaram efeito para peso de 1000 grãos para a inoculação com *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* associada à adubação nitrogenada em cobertura.

4.4 TEORES DE NITROGÊNIO E FOSFÓRO FOLIARES.

Na Tabela 6 pode-se constatar que o Nitrogênio foliar (N) e o Fósforo foliar (P) estatisticamente não apresentaram diferenças significativas em função dos tratamentos testados.

Tabela 6 - Valores médios para as variáveis Nitrogênio (N) e Fósforo (P) Foliar

Tratamentos	NF	PF
	----- g Kg ⁻¹ -----	
T1(NPK)	2,0533	0,0131
T2 (R2+NPK)	1,8666	0,0155
T3(R2+NK)	2,0533	0,0150
T4(R1+NPK)	1,9600	0,0159
T5(R1+PK)	0,9333	0,0057
T6(R1+R2+NPK)	1,6800	0,0125
T7(R1+R2+K)	2,1466	0,0177
CV (%)	30,14	32,19

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Notas: * Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

** CV%: Coeficiente de Variação.

Os Autores Cardoso et al. (2008) que avaliaram o efeito da inoculação de rizobactérias do gênero *Azospirillum* e *Pseudomonas* no crescimento e desenvolvimento de plantas de milho precoce cultivado em casa de vegetação, em solo não estéril não houve diferença significativa para os teores de N e P na parte aérea nos tratamentos inoculados, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho. Da mesma forma, Ehteshami et al. (2007) afirmaram que as RPCPs apresentaram maior efeito em solos com deficiência de nutrientes, os autores não obtiveram efeitos em componentes de produção com a inoculação individual de *P. fluorescens*. Uma possível consequência do menor teor de nitrogênio e fósforo nos tecidos vegetais quando utilizada a inoculação de *Azospirillum brasilense* pode ser devido à bactéria retardar o pico de acúmulo destes nutrientes em determinados híbridos, como constatado por Rosa (2017).

Por outro lado, Morais (2012) relataram que os resultados obtidos em diversos experimentos têm demonstrado que a associação entre *Azospirillum*/milho aumentou a

produtividade e o acúmulo de nitrogênio na planta, estando relacionado com a assimilação deste nutriente e o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas. Folhas bem nutrida de nitrogênio tem maior capacidade de assimilar CO_2 e sintetizar carboidratos durante a fotossíntese, resultando em maior acúmulo de biomassa e rendimento de grãos (FERREIRA et al., 1997). Segundo o autor Malavolta (2006), o nitrogênio além de estar presente em vários processos como fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular, também é responsável pela vegetação da planta no caso dos cereais como o trigo (na forma do afilamento).

4.5 TEORES DE ENXOFRE, COBRE, ZINCO, FERRO E MANGANÊS FOLIARES.

De acordo com a Tabela 7, não houve diferença significativa para as variáveis Enxofre Foliar (SF), Cobre Foliar (CuF), Zinco Foliar (ZnF), Ferro Foliar (FeF) e Manganês Foliar (Mn F) em função dos tratamentos testados.

Tabela 7 - Valores médios para as variáveis Enxofre Foliar (SF), Cobre Foliar (CuF), Zinco Foliar (ZnF), Ferro Foliar (FeF) e Manganês Foliar (Mn F)

Tratamentos	SF	CuF	ZnF	FeF	MnF
	g kg^{-1}	mg kg^{-1}			
T1(NPK)	3,07 a	1,26 a	3,36 a	0,54 a	0,32 a
T2 (R2+NPK)	2,93 a	1,61 a	2,96 a	0,82 a	0,40 a
T3(R2+NK)	2,49 a	2,04 a	2,99 a	0,51 a	0,35 a
T4(R1+NPK)	6,62 a	1,05 a	2,52 a	0,55 a	0,39 a
T5(R1+PK)	2,56 a	1,69 a	2,48 a	0,43 a	0,37 a
T6(R1+R2+NPK)	2,70 a	1,06 a	3,30 a	0,55 a	0,27 a
T7(R1+R2+K)	1,92 a	3,01 a	2,61 a	0,57 a	0,36 a
CV (%)	87,01	39,61	19,32	28,88	23,34

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Notas: * Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

** CV%: Coeficiente de Variação.

4.6 VALORES DE pH CaCl_2 , ACIDEZ POTENCIAL, ALUMÍNIO, HIDROGÊNIO E CARBONO ORGÂNICO DO SOLO.

De acordo com a Tabela 8, a variável do solo pH CaCl₂ apresentou diferença significativa em função dos tratamentos testados.

Por outro lado, as variáveis H+Al, Al³⁺, H⁺ e Corg, não foram influenciados significativamente em função dos tratamentos.

Tabela 8 - Valores médios para as variáveis: pH CaCl₂, Hidrogênio + Alumínio (H+Al), Alumínio (Al³⁺), Hidrogênio (H⁺) e Carbono Orgânico (Corg)

Tratamentos	pH		H+Al	Al ³⁺	H ⁺	Corg
	CaCl ₂		-----	cmol _c dm ⁻³ -----		g kg ⁻¹
T1(NPK)	5,03	c	6,10 a	0,89 a	5,21 a	9,8 a
T2 (R2+NPK)	5,06	c	6,68 a	1,89 a	4,79 a	11,2 a
T3(R2+NK)	4,86	c	7,04 a	1,64 a	5,39 a	9,5 a
T4(R1+NPK)	4,66	c	6,27 a	2,46 a	3,80 a	9,6 a
T5(R1+PK)	5,66	a	4,89 a	0,73 a	4,16 a	9,6 a
T6(R1+R2+NPK)	4,70	c	6,49 a	1,72 a	4,76 a	8,1 a
T7(R1+R2+K)	5,23	b	5,31 a	2,07 a	3,23 a	9,7 a
CV (%)	4,75		13,39	89,35	38,03	13,68

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Notas: * Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

** CV%: Coeficiente de Variação.

Conforme observado na Tabela 8, a variável pH CaCl₂ do solo apresentou o pH do solo do T5 (Inoculação de *Azospirillum brasilense* com P e K) diferiu dos demais tratamentos apresentando o maior valor de 5,66. O T7 apresentou o segundo maior valor de pH (5,23) diferindo dos demais tratamentos (T1, T2, T3 e T4 que apresentou o menor valor de pH com 4,66). Vale ressaltar que a faixa considerada ideal de pH para os solos agrícolas fica entre 6,0 a 6,5 (MALAVOLTA, 2006). Sabe-se que as raízes não se desenvolvem adequadamente em solos muito ácidos (PAVAN et al., 1982). Os inoculantes afetaram o pH do solo, deixando mais ácidos.

4.7 VALORES DE FÓSFORO MEHLICH-1, NÍVEL CRÍTICO DE FÓSFORO, FÓSFORO RELATIVO, EFICIÊNCIA DE FÓSFORO E FÓSFORO REMANESCENTE DO SOLO.

Os valores de Fósforo Mehlich-1 (P Meh-1) e Fósforo Relativo (PR) estatisticamente apresentaram diferenças significativas em função dos tratamentos (Tabela 9). Por outro lado, as variáveis Eficiência de Fósforo (Ef-P), Fósforo remanescente (P-Rem) e Nível Crítico de Fósforo (NiCri-P) não apresentaram o mesmo comportamento, ou seja, não foram influenciadas significativamente pelos tratamentos.

Tabela 9 - Valores médios para as variáveis Fósforo Mehlich-1 (P Meh-1), Fósforo remanescente (P-Rem), Nível Crítico de Fósforo (NiCri-P), Fósforo Relativo (PR) e Eficiência de Fósforo (Ef-P)

Tratamentos	P-Meh 1		NiCri-P		PR		Ef-P	P-Rem
	mg dm ⁻³		mg L ⁻¹		------(%)-----			g L ⁻¹
T1(NPK)	7,31	b	11,05	a	67,34	c	30,22 a	18,13 a
T2 (R2+NPK)	9,96	b	9,20	a	107,75	b	22,08 a	13,25 a
T3(R2+NK)	4,12	c	9,35	a	47,01	c	22,69 a	13,61 a
T4(R1+NPK)	7,23	b	9,91	a	73,15	c	25,25 a	15,15 a
T5(R1+PK)	19,91	a	12,19	a	168,87	a	35,00 a	21,00 a
T6(R1+R2+NPK)	8,07	b	11,29	a	72,97	c	31,16 a	18,70 a
T7(R1+R2+K)	0,32	c	10,05	a	3,17	d	25,86 a	15,51 a
CV (%)	34,46		16,12		44,59		26,49	24,49

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Notas: * Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

** CV%: Coeficiente de Variação.

A variável fósforo em Mehlich-1 (P Meh-1) (Tabela 9) o teor do solo do T5 (Inoculação de *Azospirillum brasilense* com P e K) diferiu significativamente dos demais apresentando o maior teor de 19,91 mg dm⁻³. Este resultado está de acordo com os obtidos para pH CaCl₂ (Tabela 8) onde o solo do T5 também apresentou o maior valor de pH CaCl₂ (5,66) proporcionando maior disponibilidade de P no solo. Na sequência, os teores dos tratamentos T1, T2, T4 e T6 não diferiram entre si, porém foram significativamente superiores ao T3 o qual apresentou o menor teor de P-Mehlich com 4,12 mg dm⁻³.

O Fósforo Relativo (PR) (Tabela 9), estatisticamente houve diferença significativa entre os tratamentos testados, onde o solo do T5 diferiu significativamente dos demais tratamentos apresentando o maior valor de 168,87 % de PR. O T2 diferiu dos demais

tratamentos. Os tratamentos T1, T3, T4, e T6 não diferiram entre si, porém diferiram significativamente dos tratamentos (T5 e T2) sendo superiores ao T7.

4.8 VALORES DE ENXOFRE, COBRE, ZINCO, FERRO, MANGANÊS, DO SOLO.

Conforme mostra a Tabela 10, notamos que estatisticamente não houve diferença significativa em função dos tratamentos das variáveis analisadas Enxofre (Ss), Cobre (Cus), Zinco (Zns), Manganês (Mns) do solo. A variável Ferro do solo (Fes), estatisticamente apresentou diferença significativa em função dos tratamentos.

Tabela 10 - Valores médios para as variáveis Enxofre (Ss), Cobre (Cus), Zinco (Zns), Ferro (Fes), Manganês (Mns) do solo

Tratamentos	Ss	Cus	Zns	Fes	Mns
	----- (mg dm ⁻³) -----				
T1(NPK)	32,1566 a	16,33 a	37,00 a	13,66 b	21,33 a
T2 (R2+NPK)	50,2266 a	17,66 a	23,00 a	19,33 a	27,00 a
T3(R2+NK)	45,9066 a	16,66 a	14,33 a	23,00 a	27,33 a
T4(R1+NPK)	22,8766 a	16,66 a	19,33 a	21,66 a	21,33 a
T5(R1+PK)	26,7400 a	15,33 a	19,33 a	24,66 a	29,66 a
T6(R1+R2+NPK)	26,7400 a	17,00 a	23,00 a	23,00 a	34,66 a
T7(R1+R2+K)	18,2566 a	16,00 a	16,00 a	21,33 a	24,66 a
CV (%)	55,73	12,46	66,21	11,22	28,27

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: T: Tratamentos (1-7); R1: Rizobactéria *Azospirillum brasilense* ; R2: Rizobactéria *Pseudomonas fluorescens*; N: Nitrogênio (Sulfato de amônio); P: Fósforo (Superfosfato simples); K: Potássio (Cloreto de potássio).

Notas: * Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Scott-Knott à nível de 5% de significância.

** CV%: Coeficiente de Variação.

Ao contrário das variáveis que não foram significativas, o teor de Fes dos solos apresentaram diferenças significativas em função dos tratamentos, onde T2, T3, T4, T5, T6 e T7 foram superiores e difeririam significativamente do T1 (Testemunha). Desta forma, o menor teor foi o do T1 (Testemunha) com 13,66 mg dm⁻³ de Fes.

5. CONCLUSÃO

- 1) A inoculação das sementes de milho com a rizobactéria *Pseudomonas fluorescens* não proporcionou elevação dos teores de P foliar e disponibilidade de P no solo (P Meh- 1).
- 2) A inoculação das sementes de milho com a rizobactéria *Azospirillum brasilense* não proporcionou elevação dos teores de N foliar (NF) e teor de clorofila foliar (CLOR). Porém, a inoculação das sementes de milho com rizobactéria *Azospirillum brasilense*, em condições de ausência de adubação nitrogenada (T5), proporcionou a elevação da disponibilidade de P-Mehlich 1 no solo.
- 3) Não foi constatado nenhum tipo de interação / sinergismo entre as rizobactérias *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* para as diferentes variáveis consideradas, no tocante a cultura do milho e atributos químicos do solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AFZAL, A. E BANO, A. (2008) - *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). **International Journal of Agriculture and Biology**, v.10, n. 1, p. 85-88.
- AGRA, A. G. S. de M. **Utilização de rizobactéria de micorrizas na produção de mudas de maracujá**. Dissertação de Mestrado em Agronomia; Produção Vegetal – Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2007. 48 f.
- AMARAL FILHO, J. P. R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J.R. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.467-473, 2005.
- ANDRADE, R. V. et al. **Recursos Genéticos de Milho: BAG Milho**. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas - MG, 2006. Disponível em: < <http://www.cnpms.embrapa.br/milho/bagmilho.php> >. Acesso em 04 outubro 2016.
- ANDREOLA, F. FERNANDES, S.A.P. A. **Microbiota do Solo na Agricultura Orgânica e no Manejo das Culturas**. In: da SILVEIRA, A.P.D. FREITAS, S. dos S. Eds. Microbiota do solo e Qualidade Ambiental. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2007. p. 21-33.
- ARAÚJO, E. O.; MERCANTE, F. M.; VITORINO, A. C. T. Effect of nitrogen fertilization associated with inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* on corn. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 10, n. 3, p. 137-145, 2015.
- ARRUDA, L. M. **Seleção e Caracterização de Rizobactérias Promotoras de Crescimento do Milho Cultivadas no Rio Grande do Sul**. 2012. 58 f. Dissertação (mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de pós – graduação em Genética e Biologia Molecular, Porto Alegre, 2012.

BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 77, n.3, 2005.

BARROS NETO, C. R. de. Efeito **do nitrogênio e da inoculação de sementes com *Azospirillum brasiliense* no rendimento de grãos de milho**. 2008. 29 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná.

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**. 2010;5:56-9.

BASHAN, Y., HOLGUIN, G. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**. 43: 103-121.

BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasiliense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Estadual do Centro-Oeste, Curso de pós graduação em Agronomia, Guarapuava, 2013.

BHATTACHARJEE, R.B; SINGH, A.; MUKHOPADHYAY, S.N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, n. 2, p.199-209, 2008.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n.4, p.1327-1350, 2012.

BOOIJ, R.; VALENZUELA, J.L.; AGUILERA, C. Determination **of crop nitrogen status using non-invasive methods**. In: HAVERKORT, A.J.; MACKERRON, D.K.L. (Eds.). Management of nitrogen and water in potato production. The Netherlands, Wageningen Pers, p. 72- 82, 2000.

CARDOSO, I. C. M.; MARIOTTO, J. R.; KLAUBERG FILHO, O.; SANTOS, J. C. P.; FELIPE, A. F.; NEVES, A.N.; MIQUELUTTI, D. J. Resposta de milho (*Zea mays* L.) precoce à inoculação de rizobactérias em casa-de-vegetação. In: Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, 28, 2008, Londrina. **Anais...**Londrina: SBCS, 2008. CD Rom.

CASTELLEN, P. **Análise estrutural e funcional da região glbba de *Azospirillum brasiliense***. 2005, 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências - Bioquímica) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Paraná. Disponível em:Acesso em 10 de outubro de 2016.

COELHO, A. M. **Adubação e Nutrição do Milho**. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHAES, P. C. (Ed.). A cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. cap. 6, p. 131-157.

COELHO, A. M.; ALVES, V. M. C. **Adubação fosfatada na cultura do milho.** In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. Fósforo na agricultura brasileira. Piracicaba, Potafos, 2004. p.243-283.

COELHO, F.L.; FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; AMBROSANO, G.M.B. Interação de bactérias do gênero *Pseudomonas fluorescentes* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1413-1420, 2007.

COELHO, L. F. **Interação de *Pseudomonas* spp. e de *Bacillus* spp.com diferentes rizosferas.** 2006. 71 f. Dissertação (mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônômico de Campinas, Curso de pós – graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, Campinas, 2006.

CONAB. **Acompanhamento da safra de grãos - V3 safra 2015/16 - N.12 Décimo Segundo levantamento/ setembro 2016.** Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_09_06_09_03_20_boletim_12_setembro.pdf> Acesso em 07 setembro 2016.

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

DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.16, n.9, p.645-651, 1996.

EHTESHAMI, S. M.; AGHAALIKHANI, M.; KHAVAZI, K.; CHAICHI, M. R. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on quantitative and qualitative characteristics of maize (*Zea mays* L.) under water deficient stress. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Lasani Town Faisalabad, v. 10, n. 20, p. 3585- 3591, 2007.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

FAGERIA, N. K.; Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, Campina Grande, v.2, p.6-16, 1998.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **In...**45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p. 255-258.

FERREIRA, A. C. B. **Efeitos da adubação com N, Mo, Zn sobre a produção, qualidade dos grãos e concentração de nutrientes no milho.** 1997. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

FLETCHER, A. L.; MOOT, D. J.; STONE, P. J. Solar radiation interception and canopy expansion of sweet corn in response to phosphorus. **European Journal Agronomy**, Philadelphia, v. 29, p. 80-87, 2008.

FREITAS, I. C. V. e RODRIGUES, M. B. Fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 31, n. 2, p. 143–154, 2010.

GALDIANO JR, R. F.; Isolamento, identificação e inoculação de bactérias produtoras de auxinas associadas às raízes de orquídeas. **Jaboticabal**, Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/gmp/m/3614.pdf> acesso em: 10 de setembro de 2016.

GLICK, B.R.; TODOROVIC, B.; CZARNY, J.; CHENG, Z.; DUAN, J. E MCCONKEY, B. (2007) - Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. **Critical Reviews in Plant Sciences**, vol. 26, n. 5-6, p. 227-242.

GONÇALVES JÚNIOR, A. C.; Nacke, H.; Strey, L.; Schwantes, D.; Selzlein, C. Produtividade e componentes de produção do milho adubado com Cu e NPK em um argissolo. **Scientia Agrária**, Curitiba, v.9, p.35-40, 2008.

GRAZIA, D. J.; TITTONEL, P. A.; GERMINARA, D.; CHIESA, A. Phosphorus and nitrogen fertilisation in sweet corn (*Zea mays* L. var. *saccharata* Bailey). **Spanish Journal Agricultural Research**, Madrid, v. 1, p. 103- 107, 2003.

HUMPHRIS, S.N.; BENGOUGH, A.G.; GRIFFITHS, B.S.; KILHAM, K.; RODGER, S.; STUBBS, V.; VALENTINE, T.A.; YOUNG, I.M. Root cap influences root colonisation by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 on maize. **Fems Microbiology Ecology**, v. 54, p. 123-130, 2005.

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

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80p. (Embrapa Soja. Documentos, 283). (ISSN 1516-781X; N 283).

IAPAR. **Amostragem de solo para análise química - plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras**. CIRCULAR N° 90. Londrina – Paraná. AGOSTO/96.

IAPAR. **Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no estado do Paraná- plantio direto e convencional, culturas perenes, várzeas, pastagens e capineiras**. CIRCULAR N° 128. Londrina – Paraná. AGOSTO/03.

JAMES, E.K.; BALDANI, J.I. The role of biological nitrogen fixation by non-legumes in the sustainable production of food and biofuels. **Plant and Soil**, v. 356, n.1, p. 1 - 3, 2012.

JORDÃO, L. T.; LIMA, F. F.; LIMA, R. S.; MORETTI, P. A. E.; PEREIRA, H. V.; MUNIZ, A. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com

Azospirillum brasilense sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. In: FERTBIO, 2010, Guarapari. **Anais...** Viçosa: SBCS, 2010. 1 CD-ROM.

JUNIOR, F. B. R.; MENDES, I. C. **A fixação biológica de nitrogênio e o meio ambiente.** Embrapa Cerrados, 2008. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=26411>>. Acesso em 08 de outubro de 2016.

LANA, M. do C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa MG, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

LARA CABEZAS, W.A.R.; TRIVELIN, P.C.O.; KORNODÔRF, G.H.; PEREIRA, S. Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro. **Revista Brasileira da Ciência do Solo**. 2000;14:363-76.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas.** São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, 2006. 231p.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, I. M. T. S. Importância de Bactérias Promotoras de Crescimento e de Biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, vol.n.1, p.89-111, 2004.

MORAIS, T. P. **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho.** 2012. 83f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

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

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

OLIVEIRA JÚNIOR, A. de; PROCHNOW, L. I.; KLEPKER, D. Eficiência agronômica do fosfato natural reativo na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.623-631, 2008.

OLIVEIRA, J. M. S. de; CAIRES, E. F. Adubação nitrogenada em cobertura para o milho cultivado após aveia preta no sistema plantio direto. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, no. 2, p. 351-357, 2003.

OLIVEIRA, M. A. ; ZUCARELI, C.; FERREIRA, A. S.; DOMINGUES, A. R.; SPOLAOR, L. T. E NEVES, C. S. V. J. Adubação fosfatada e rizobactérias no desempenho do milho. **Revista de Ciências Agrárias**, 2015, 38(1): 18-25.

OLIVEIRA, M. A. **Adubação mineral e inoculação a base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho** / Mariana Alves Oliveira de. – Londrina, 2010. 87 f. : il. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina.

OLIVEIRA, M. A.; ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C. R.; FERREIRA, A.S.; DOMINGUES, A. R.; SPOLAOR, L. T.. Componentes de Produção e Produtividade do Milho em Resposta a Doses de Fósforo e Inoculação com *Pseudomonas fluorescens*. **XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO** - Águas de Lindóia - 26 a 30 de Agosto de 2012.

PACHECO, S. M. V.; DAMASIO, F. Aplicação de microrganismos disponibilizadores de fosfato imobilizados em alginato de cálcio na agricultura. **Revista Eletrônica de Biologia (REB). ISSN 1983-7682**, [S.l.], v. 6, n. 2, p. 184-204, mar. 2014. ISSN 1983-7682. Disponível em: <<http://revistas.pucsp.br/index.php/reb/article/view/11455>>. Acesso em: 08 outubro. 2016.

PAVAN, M.A.; BINGHAM, F.T. & PRATT, P.F. Toxicity of aluminium to coffee in Ultisols and Oxisols amended with CaCO₃ and CaSO₄. **Soil Science Society of America Journal, Madison**, 46:1201-1207, 1982.

PERIN, L.; SILVA, M.F da; FERREIRA, J.S.; CANUTO, E.L.; MEDEIROS, A.F.A.; OLIVARES, F.L.; REIS, V.M. Avaliação da capacidade de estabelecimento endofítico de estirpes de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* em milho e arroz. **Revista Agronomia**, Seropédica, vol. 37, n.2, p. 47-53, 2003. Disponível em:. Acesso em 08 de outubro de 2016.

REIS, V. M.; TEIXEIRA, K. R. S. **Fixação biológica do nitrogênio** - Estado da arte. In: Aquino AM, Assis RL, editores. Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; 2005. p.350-68.

REZENDE, A.V. **Aspectos relacionados com a adubação fosfatada nos cerrados**. Planaltina- DF: EMBRAPA Cerrados, 2007. 32p. (Documentos Embrapa Cerrados,195).

ROESCH, L.F.W. Screening of diazotrophic bacteria *Azospirillum* spp. for nitrogen fixation and auxin production in southern Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.23,n.10,p.1377-1383,2007.

ROTTA, L. R. **Fracionamento e disponibilidade de fósforo em uma cronosequência de cultivos sob Plantio direto**. Jataí, 2012. 72p. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal) - Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás, 2012.

ROSA, P. A. L. **Acúmulo de matéria seca e extração de nutrientes por híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense* no cerrado**. 2017. 101f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2017.

RUDNIK, P.; MELETZUS, D.; GREEN, A. ; HE, L.; KENNEDY, C. Regulation of nitrogen fixation by ammonium in diazotrophic species of proteobacteria. **Soil Biology Biochemistry**, Elmsford, v. 29, n. 5, p. 831- 841, 1997.

SALA, V. M. R.; SILVEIRA, A. P. D. da; CARDOSO, E. J. B. N. **Bactérias Diazotróficas Associadas a Plantas Não-leguminosas**. In: SILVEIRA, A. P. D. da; FREITAS, S. dos S. Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental. Campinas. Instituto Agrônômico, 2007. Cap. 6, p. 97-115.

SILVA ED, BUZETTI S, LAZARINI E. Aspectos econômicos da adubação nitrogenada na cultura do milho em sistema de plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. 2005;4:286-97.

SOUSA, D. M. G. de; REIN, T. A.; GOEDERT, W. J.; NUNES, R. de S. Fósforo. In: PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. (Ed.). **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes**. Piracicaba: IPNI, 2010. v.2, p.67-134.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719 p.

VITTI, G. C.; WIT, A.; FERNANDES, B. E. P. Eficiência agronômica dos termofosfatos e fosfatos reativos naturais. In: **SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA**. 1, 2004, Piracicaba. Anais... Piracicaba: POTAFOS,p.690-694, 2004.

ZORARELLI, L.; CARDOSO, E. G.; PICCININ, J. L.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; TORRES, E.; ALVES, B. J. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de nitrogênio do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1117-1122, 2003.

ZUCARELI, C.; CIL, I.R.; PRETE, C. E. C.; PRANDO, A. M. Eficiência agronômica da inoculação à base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 4, n.13, p.152-157, 2011.