



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE CERRO LARGO
CURSO DE AGRONOMIA**

DARLEI LUIZ HECK

**BIOCONTROLE DE PATÓGENOS NECROTRÓFICOS DO MILHO VIA
MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM PROCARIOTOS**

CERRO LARGO

2019

DARLEI LUIZ HECK

**BIOCONTROLE DE PATÓGENOS NECROTRÓFICOS DO MILHO VIA
MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM PROCARIOTOS**

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

Orientadora: Prof. Dr^a. Juliane Ludwig.

CERRO LARGO

2019

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Heck, Darlei Luiz

Biocontrole de patógenos necrotróficos do milho via
microbiolização de sementes com procariotos / Darlei Luiz
Heck. - - 2019.

43 f. : il.

Orientadora: Doutora Juliane Ludwig.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Agronomia, Cerro Largo, RS , 2019.

1. Zea mays. 2. Controle biológico. 3. Isolados
bacterianos. 4. Tratamento de sementes. I. Ludwig, Juliane,
orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

DARLEI LUIZ HECK

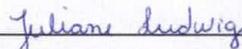
**BIOCONTROLE DE PATÓGENOS NECROTRÓFICOS DO MILHO VIA
MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM PROCARIOTOS**

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

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

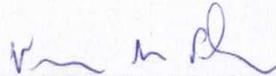
25/11/2019.

BANCA EXAMINADORA

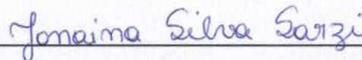


Prof. Dr^a. Juliane Ludwig - UFFS

Orientadora



Prof. Dr. Nerison Luis Poersch - UFFS



Eng^a. Agr^a. Janaina Silva Sarzi - UFSM

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida e pela saúde que me concedeu para chegar até esse momento.

Agradeço a minha família, aos meus pais René e Rosane, e aos meus irmãos Diego e Dominick, por todo apoio e conselhos que me proporcionaram.

A orientadora, professora Dra^a. Juliane Ludwig, pela orientação, pela paciência, pelos conselhos, pelos ensinamentos e por toda ajuda na execução do trabalho.

Aos colegas de curso, especialmente aos que auxiliaram na execução do trabalho, pelo companheirismo durante o período da graduação, amizade que com certeza levarei para a vida.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram e fizeram parte desta caminhada.

Muito obrigado.

RESUMO

O milho é considerado uma das culturas de maior importância econômica produzidas no mundo, devido as diversas formas de utilização dos grãos produzidos. É o cereal que apresenta as maiores quantidades de grãos produzidos no mundo, sendo que o Brasil ocupa posição de destaque nesse cenário, pois é o terceiro maior produtor mundial de milho. No entanto, existem vários fatores que afetam negativamente o potencial produtivo da cultura e causam perdas em produtividade, dentre os quais tem ganhado destaque a alta incidência de doenças que acometem os cultivos comerciais de milho. O controle biológico é uma das formas de controle que vem ganhando destaque nos últimos anos, principalmente devido a busca de formas de controle que sejam menos prejudiciais ao meio ambiente. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da microbiolização de sementes de milho com procariotos isolados ou combinados, na severidade de doenças foliares, nos componentes de crescimento e em variáveis de rendimento da cultura. Para isso, as sementes de milho da cultivar SHS 5050 foram microbiolizadas, com os isolados bacterianos LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.), LABMID UFFS 16, LABMID UFFS 27, pertencentes ao acervo de isolados do Laboratório de Manejo Integrado de Doenças (LABMID UFFS). Os isolados foram utilizados separados ou em combinação. Foram realizadas semanalmente avaliações da severidade das manchas foliares, mancha-branca e helmintosporiose, além da avaliação dos componentes de crescimento como altura de plantas, altura de inserção da primeira espiga, o diâmetro do colmo e distância de entrenós, e também variáveis de rendimento como número de fileiras por espiga, número de grãos por espiga, massa de mil grãos e produtividade. Foi possível concluir que o tratamento das sementes de milho com os isolados bacterianos testados reduziu o progresso das doenças avaliadas. Não foi encontrado efeito significativo da microbiolização das sementes nos componentes de crescimento e rendimento das plantas, porém o tratamento com o isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) obteve uma produtividade de 846 kg ha⁻¹ superior em relação a testemunha.

Palavras-chave: *Zea mays*. Controle biológico. Isolados bacterianos. Tratamento de sementes.

ABSTRACT

Corn is considered one of the most economically important crops produced in the world, due to the different ways of using the produced grains. It is the cereal that has the largest quantities of grain produced in the world, Brazil occupies a prominent position in this scenario, as it is the third largest world producer of corn. However, there are several factors that negatively affect the productive potential of the crop and cause losses in productivity, among which the high incidence of diseases affecting commercial corn crops has been highlighted. Biological control is one of the forms of control that has gained prominence in recent years, mainly due to the search for control methods that are less harmful to the environment. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of maize seed microbiolization with isolated or combined prokaryotes, on leaf disease severity, growth components and crop yield variables. For this, the corn seeds of cultivar SHS 5050 were microbiolized, with bacterial isolates LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.), LABMID UFFS 16, LABMID UFFS 27, belonging to the collection of isolates from the Integrated Disease Management Laboratory (LABMID UFFS). Isolates were used separately or in combination. Severity of leaf spot, white spot and helminthsporiosis were evaluated weekly, as well as evaluation of growth components such as plant height, first cob insertion height, stem diameter and internode distance, as well as yield variables as number of ranks per cob, number of grains per cob, mass of one thousand grains and productivity. It was concluded that the treatment of corn seeds with the bacterial isolates tested reduced the progress of the evaluated diseases. No significant effect of seed microbiolization on plant growth and yield components was found, but treatment with the isolate LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) obtained a productivity of 846 kg.ha⁻¹ higher than the witness treatment.

Keywords: *Zea mays*. Biological control. Bacterial isolates. Seed Treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Croqui de distribuição dos tratamentos na área do experimento.	25
Figura 2 - Escala diagramática para avaliação da severidade de manchas foliares.	26
Figura 3 - Escala diagramática para a avaliação da severidade de mancha-branca em milho.....	27
Figura 4 - Escala diagramática para a avaliação da severidade de helmintosporiose em milho.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Laudo de análise química do solo da área onde foi conduzido o experimento.....	23
Tabela 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de manchas foliares, mancha branca e helmintosporiose de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos microbianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si.	30
Tabela 3 - Altura de plantas (m), Altura de inserção da primeira espiga (m), Diâmetro do colmo (cm) e distância de entrenós (cm) de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos microbianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si.	32
Tabela 4 - Número de fileiras por espiga e número de grãos por espiga de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos microbianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si.	34
Tabela 5 - Massa de mil grãos (MMG) (g), e produtividade (kg.ha ⁻¹) de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos microbianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 CULTURA DO MILHO.....	13
2.2 FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO	14
2.3 DOENÇAS DO MILHO.....	16
2.3.1 Mancha-branca	17
2.3.2 Cercosporiose	17
2.3.3 Helmintosporiose	18
2.3.4 Mancha foliar de <i>Bipolaris maydis</i>	18
2.4 CONTROLE DE DOENÇAS.....	19
2.5 CONTROLE BIOLÓGICO	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	23
3.2 COLETA DE SOLO E PREPARO DA ÁREA.....	23
3.2 TRATAMENTOS E IMPLANTAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	24
3.3 AVALIAÇÕES.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal que apresenta as maiores quantidades de grãos produzidos no mundo, destacando-se o Brasil como terceiro maior produtor, contribuindo com 8,58% da produção mundial, ficando atrás apenas dos Estados Unidos com 33,26% e da China com 23,36% (USDA, 2019). No Brasil, foi registrado na safra 2018/2019 um acréscimo na produção de 23,9% em relação à safra anterior, alcançando a produção de 99,984 milhões de toneladas (CONAB, 2019). A cultura do milho possui grande importância econômica, principalmente devido as diversas formas de sua utilização, sendo a maior parte da produção destinada a alimentação animal, alimentação humana e à fabricação de produtos industrializados, que somados são responsáveis pela utilização de cerca de 91% do milho produzido (FORNASIERI FILHO, 2007).

Apesar do cenário favorável, diversos são os fatores capazes de afetar negativamente o potencial produtivo da cultura, entre os quais destacam-se os fatores bióticos e abióticos. Dentre os fatores bióticos, as doenças tem ganhado destaque devido ao aumento da incidência de agentes que acometem os cultivos comerciais do cereal, devido, principalmente, a fatores como cultivos consecutivos da cultura em uma mesma área, utilização de cultivares suscetíveis, e também da manutenção de restos culturais sobre o solo servindo como fonte de sobrevivência de patógenos necrotróficos (COTA et al., 2013). Entre as doenças que mais atacam a cultura do milho estão, as ferrugens (*Puccinia polysora*, *Puccinia sorghi*, *Physopella zaeae*), a mancha-branca (*Phaeosporium maydis*/*Pantoea ananatis*), as helmintosporioses (*Exserohilum turcicum* e *Bipolaris maydis*) e a cercosporiose (*Cercospora zeae-maydis*) (GRIGOLLI, 2017).

Existem diversas formas de realizar o controle de doenças, dentre as quais, tem ganhado destaque o controle biológico, devido a constante busca por métodos menos prejudiciais ao meio ambiente. O controle biológico consiste na utilização de microrganismos biocontroladores na redução do potencial de patógenos em causar doenças. Os agentes de biocontrole podem agir de forma direta através de interações sobre os patógenos e também de forma indireta, induzindo a ativação de mecanismos de resistência do hospedeiro. Um grupo de microrganismos largamente utilizado no controle biológico de doenças, são as bactérias, entre as quais tem ganhado destaque

as bactérias do gênero *Bacillus* devido sua ampla versatilidade em desenvolver-se em diferentes partes das plantas e apresentar grande eficácia no controle de doenças de plantas.

Foram encontrados resultados positivos no controle da doença antracnose em seringueira, com a utilização de *Bacillus subtilis* (CARNEIRO et al., 2017). Bezerra et al. (2013) observaram eficiência da microbiolização em sementes de soja com *Bacillus* sp. na redução da incidência de fungos fitopatogênicos nas sementes. Dorighello (2013) observou eficácia do uso de *Bacillus subtilis* na redução da severidade da ferrugem asiática da soja. Na cultura do milho a microbiolização das sementes com isolados de *Bacillus* sp. reduziu a severidade da doença helmintosporiose (SHIOMI, 2007).

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da microbiolização de sementes de milho com procariotos isolados ou combinados, na severidade de doenças foliares, nos componentes de crescimento e em variáveis de rendimento da cultura.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae e tem sua origem no continente Americano, mais precisamente onde localiza-se atualmente o México. A cultura do milho apresenta-se amplamente dispersa no mundo, sendo encontrado com objetivos comerciais desde a latitude 58° N a 40 ° S, do nível do mar a 3800 metros de altitude (PATERNIANI, 1995 apud TORRES, 2017).

O milho é um dos cereais com maior importância econômica produzido no mundo, devido as diversas formas de utilização, tanto na alimentação animal como humana, bem como, na produção de produtos tais como amido, xarope, álcool, óleo vegetal e glúten. É considerado a principal fonte de energia e proteína na alimentação de populações que possuem baixa renda, principalmente por ser uma fonte de alimentação com custo reduzido (FORNASIERI FILHO, 2007).

As diferentes formas de utilização e processamento do milho são influenciados pela qualidade dos grãos. No Brasil a Instrução Normativa nº 60, de 22 de dezembro de 2011 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece alguns padrões oficiais, em que classifica o milho em três diferentes tipos ou fora do tipo. Essa classificação considera limites máximos de defeitos que podem estar presentes na amostragem do lote de grãos, entre os defeitos analisados estão os grãos ardidos, chochos ou imaturos, fermentados, germinados, gessados, mofados, quebrados, carunchados, além da presença de matérias estranhas e impurezas (GLORIA; DOMINGUES, 2015).

No cenário internacional, projeções do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) para a safra 2018/2019 apontam que a produção mundial deva alcançar 1,1 bilhão de toneladas em uma área plantada de 189,07 milhões de hectares, com produtividade média de 5,82 toneladas por hectare. Os maiores produtores mundiais do cereal são os Estados Unidos, a China e Brasil (USDA, 2019).

No Brasil, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) a produção de milho total na safra 2018/2019 superou os valores registrados na safra de 2017/2018 passando de 80,709 milhões de toneladas para 99,984 milhões de toneladas gerando uma produção 23,9% superior quando comparada a safra anterior.

(CONAB, 2019). Em âmbito nacional o milho representa a segunda maior área cultivada e é responsável pela segunda maior produção de grãos atrás apenas da soja (FORNASIERI FILHO, 2007).

O estado do Rio Grande do Sul registrou na safra 2018/2019 uma produção de 5,76 milhões de toneladas do grão em uma área de 753,9 mil hectares, alcançando uma produtividade média de 7,65 toneladas por hectare superando a produtividade média nacional que atingiu 5,71 toneladas por hectare (CONAB, 2019).

2.2 FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO

Apesar dos números expressivos e bastante relevantes para a economia e geração de alimentos obtidos com o milho, essa cultura é influenciada por vários fatores, os quais já podem se fazer presentes desde a implantação da cultura. Dentre esses fatores pode-se destacar a qualidade de sementes, uma vez que estas figuram entre os insumos de maior importância da agricultura, e sua qualidade é um fator primordial para ter sucesso no estabelecimento da cultura (POPINIGIS, 1985). Sementes de qualidade apresentam alto vigor o que permite germinação e emergência mais rápida e uniforme, resultando em plântulas mais vigorosas e com elevado potencial produtivo (FRANÇA-NETO et al., 2016).

Associado às sementes, a semeadura é outro fator de destaque para um bom estabelecimento e desenvolvimento da cultura, sendo necessário a distribuição uniforme das sementes no sulco de semeadura, para se obter um bom estande de plantas (TOURINO; REZENDE; SALVADOR, 2002). Segundo Dambrós (1998) o aumento da velocidade na operação da semeadura reduz a uniformidade de distribuição das sementes.

As condições climáticas também são características que determinam a produção do milho. Dentre os principais fatores climáticos que afetam o crescimento e desenvolvimento da cultura estão a temperatura, a precipitação pluviométrica e a radiação solar (FORNASIERI FILHO, 2007).

A temperatura ótima varia ao longo do desenvolvimento da cultura, sendo que a temperatura ideal está entre 24 e 30°C durante os estádios de emergência à floração (CRUZ, 2006). Segundo o autor, em temperaturas inferiores a 10°C o crescimento das plantas é praticamente paralisado e em temperaturas superiores a 30°C ocorre a

redução na produtividade de grãos. Ainda segundo o autor, longos períodos com temperaturas noturnas altas ocasionam redução na produtividade e senescência precoce das folhas.

Relacionado a água, a cultura do milho é bastante exigente nesse fator, sendo necessária em geral entre 410 e 640 mm de água num ciclo de desenvolvimento da cultura. A demanda de água varia ao longo do desenvolvimento da cultura, sendo as fases de pendoamento e formação das espigas as mais exigentes (FORNASIERI FILHO, 2007). A ocorrência de estresse hídrico durante as fases de maior demanda de água, podem causar perdas de 50% no rendimento da cultura (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

A radiação solar também influencia no desempenho produtivo do milho. Por ser uma planta C4, apresenta alta eficiência na utilização de elevadas intensidades de radiação, sendo que, cerca de 90% da matéria seca das plantas provem da fixação de CO₂ pelo processo da fotossíntese (CRUZ, 2010). Durante o florescimento a sensibilidade da planta à falta de luz é elevada e, a ausência de radiação solar pode causar retardo na maturação dos grãos e diminuição no rendimento, devido a redução da eficiência do processo de fotossíntese (FORNASIERI FILHO, 2007).

Além dos fatores climáticos, a cultura do milho é dependente de um bom manejo da nutrição do solo para alcançar produtividades elevadas (PIONNER, 2014). Dentre os nutrientes, o nitrogênio é o mais exigido pela cultura (COELHO et al., 2002), sendo absorvido pelas plantas na forma amoniacal e nítrica, porém, essa última é, a forma preferencial de absorção (VASCONCELLOS; SANTOS; FRANÇA, 1982). Este nutriente faz parte da constituição de proteínas, enzimas, coenzimas, ácido nucléicos, fitocromos e da clorofila (FORNASIERI FILHO, 2007).

A adubação nitrogenada tem grande importância nos primeiros estádios de desenvolvimento da cultura, principalmente no estágio V4 (quatro folhas verdadeiras), pois nesse estágio o nitrogênio contribui com a proliferação de pelos radiculares resultando em maior desenvolvimento da parte aérea. Nesse estágio também se inicia o processo de diferenciação floral, que estimula o aparecimento dos primórdios da panícula e da espiga, quando se define o potencial produtivo da cultura (YAMADA; ABDALLA, 2000).

Quando se remete aos fatores bióticos que causam danos a cultura do milho, destacam-se as pragas e as doenças. No milho, as pragas que causam maiores danos

são as que atacam o sistema radicular, e também a parte aérea. (FORNASIERI FILHO, 2007). Na região sul, predominam a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*), a lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*), a lagarta rosca (*Agrotis ipsilon*), a larva-alfinete (*Diabrotica speciosa*), e algumas espécies de percevejos, como o percevejo barriga-verde (*Dichelops furcatus*) (WORDELL FILHO; CHIARADIA; BALBINOT JUNIOR, 2012).

Além das pragas, a produtividade do milho também é afetada pela incidência de doenças. A importância das doenças na cultura do milho teve início na década de 90, relacionada, principalmente, a realização de cultivos em sequência da cultura (safra e safrinha) na mesma área, semeadura sem revolvimento do solo, com a permanência de restos de cultura como fonte de sobrevivência de patógenos e o uso de cultivares suscetíveis as doenças (COTA et al., 2013).

2.3 DOENÇAS DO MILHO

No milho, as doenças podem ocorrer durante todo o ciclo de desenvolvimento da cultura. A fase mais crítica ao ataque de doenças é compreendido entre os estádios de pendoamento até o estágio de grão pastoso. Plantas atacadas por doenças apresentam folhas com área fotossinteticamente ativa reduzida, o que ocasiona menor produção de fotoassimilados, e em consequência menor produtividade da cultura (WORDELL FILHO et al., 2016).

As doenças foliares que apresentam maior importância na cultura do milho são as ferrugens (*Puccinia polysora*, *Puccinia sorghi*, *Physopella zae*), a Mancha-branca (*Phaeospharia maydis/Pantoea ananatis*), as helmintosporioses (*Exserohilum turcicum* e *Bipolaris maydis*) e a cercosporiose (*Cercospora zae-maydis*) (GRIGOLLI, 2017).

Os patógenos são divididos de acordo com o modo de sobrevivência em biotróficos e necrotróficos. Os patógenos biotróficos, nos quais se incluem os agentes causais das ferrugens, míldios, oídios e carvões, necessitam da presença do hospedeiro vivo para a sua sobrevivência, sendo as plantas voluntárias a principal fonte de manutenção destes ao longo do ano. Por outro lado, os patógenos necrotróficos, causadores de manchas foliares, de cancrios, podridões de colmo de

espiga e radiculares, sobrevivem em restos de cultura das plantas hospedeiras, sendo beneficiados em lavouras com plantio direto, devido ocorrer lenta decomposição da palhada (REIS; CASA; BIANCHIN, 2011).

2.3.1 Mancha-branca

A mancha-branca é uma das doenças de maior importância na cultura do milho, devido ter ocorrência em praticamente todas as regiões produtoras do cereal. O agente causal da doença parece ser o fungo *Phaeosphaeria maydis* (P. Henn) (FORNASIERI FILHO, 2007). Porém, trabalhos realizados recentemente indicam a bactéria *Pantoea ananatis* (Serrano) como patógeno iniciador da doença (PACOLLA-MEIRELLES et al., 2002). Os sintomas desta doença incluem a presença de lesões cloróticas de formato arredondado, que podem atingir de 0,5 a 1,5 cm de diâmetro, e aparecem inicialmente nas folhas da parte inferior da planta passando para parte superior em condições climáticas favoráveis (WORDELL FILHO; CHIARADIA; BALBINOT JR, 2012).

A doença é favorecida em condições de umidade relativa acima de 60% e temperaturas noturnas amenas. Em casos de condições favoráveis ao desenvolvimento da doença, pode ocorrer redução na produtividade de até 60%, devido a redução do tamanho e peso dos grãos das plantas afetadas (FERNANDES; OLIVEIRA, 1997).

2.3.2 Cercosporiose

A cercosporiose ganhou destaque a partir da implantação da semeadura direta, pois com essa prática o revolvimento do solo ocorre apenas no sulco de semeadura, permitindo que os restos culturais permaneçam sobre o solo e sirvam como fonte de sobrevivência para os esporos do fungo. Além da semeadura direta, cultivos consecutivos da cultura também favorecem o aparecimento da cercosporiose (FORNASIERI FILHO, 2007). Esta doença é causada pelo fungo *Cercospora zeae-maydis* (Tehon & Daniels) e, os sintomas iniciais aparecem na parte inferior da planta, onde ocorrem manchas nas folhas que podem apresentar de 1 a 6 cm de

comprimento. As manchas apresentam formato retangular e coloração amarelada podendo passar para cinza em situações de elevada umidade (WORDELL FILHO et al., 2016).

Podem ocorrer perdas de rendimento maiores que 80% em situações de elevada incidência da doença, que é favorecida em condições de elevada umidade relativa do ar e temperaturas entre 25 e 30°C (GRIGOLLI, 2017).

2.3.3 Helminthosporiose

Essa doença, causada por *Exserohilum turcicum* (Pass.) (sinonímia *Helminthosporium turcicum*), pode ser encontrada em todos os locais de produção de milho, sendo considerada umas das doenças mais antigas e com potencial de causar danos a cultura (FERNANDES; OLIVEIRA, 1997). A presença da helminthosporiose pode ser percebida a partir da visualização dos sintomas que aparecem cerca de uma semana após a infecção, inicialmente nas folhas inferiores da planta, onde ocorre o aparecimento de lesões necróticas, com formato elíptico, coloração que varia de verde-cinza a marrom, e com dimensões de 2,5 a 15 cm de comprimento (WORDELL FILHO et al., 2016).

Temperaturas entre 18 e 27°C são consideradas ótimas para o desenvolvimento da doença, sendo que as perdas podem chegar a 50% do rendimento em casos de elevada incidência da doença antes do período de floração (GRIGOLLI, 2017). A sobrevivência do fungo acontece nos restos de cultura, e a disseminação do patógeno ocorre pela ação da chuva em curtas distâncias e pela ação do vento onde podem atingir grandes distâncias (WORDELL FILHO; CHIARADIA; BALBINOT JR, 2012).

2.3.4 Mancha foliar de *Bipolaris maydis*

Esta mancha foliar, ganhou destaque a partir da safra de 1970, quando manifestou-se com elevada severidade, causando grandes danos a cultura (PEREIRA, 1997). Regiões de clima temperado e tropicais com temperaturas quentes e úmidas, apresentam condições que favorecem o desenvolvimento da doença, sendo

que em alguns casos as perdas no rendimento podem chegar a 70%, quando houver elevada incidência da doença (CHAGAS et al., 2015). Esta doença é provocada pelo fungo *Bipolaris maydis* (Nisik.) (sinonímia *Helminthosporium maydis*), que possui duas raças, a raça “O” e a raça e a “T”. Os sintomas são dependentes da raça do fungo que está infectando as plantas. A raça “O” possui maior destaque nos cultivos de milho, apresentam lesões pequenas e alongadas de coloração palha, e ocorrem paralelamente as nervuras das folhas. Já a raça “T” é responsável por causar lesões maiores, de formato oval, com coloração marrom-escuro e em alguns casos podem apresentar um halo clorótico (WORDELL FILHO; CHIARADIA; BALBINOT JR, 2012)

A sobrevivência do patógeno ocorre principalmente em restos culturais infectados, da safra anterior. Longos períodos de molhamento foliar e temperaturas entre 20 e 32°C são condições que favorecem o desenvolvimento da doença (FERNANDES; OLIVEIRA, 1997).

2.4 CONTROLE DE DOENÇAS

Existem vários métodos visando o controle de doenças, entre os quais destacam-se o controle cultural, o genético, o químico e o biológico. O controle cultural consiste na redução da quantidade de inóculo do patógeno, através de medidas que atuam na sobrevivência do agente causal. Entre as medidas encontram-se a diversificação de espécies, uso de sementes de qualidade, densidade de plantas adequada, preparo do solo, seleção de épocas de semeadura, afim de evitar que em períodos de maior suscetibilidade do hospedeiro se tenha elevado potencial de inóculo do patógeno (REIS; FORCELINI. 1995).

O controle genético baseia-se na utilização de resistência genética no manejo de doenças. O uso de cultivares resistentes é considerado um método simples de ser utilizado em cultivos agrícolas, além de apresentar grande eficácia no controle de doenças, sem ocasionar expressivos aumentos nos custos de produção (MICHEREFF, 2014; CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006).

Da mesma forma, o controle químico é amplamente utilizado na agricultura atual, devido a rapidez e a eficiência no controle de doenças, sendo em muitos casos, considerado a única forma de garantir elevada produtividade e qualidade do produto.

No entanto, sua utilização deve ser realizada de forma integrada a um conjunto de medidas de controle (KIMATI, 1995). Na cultura do milho os principais grupos químicos utilizados no controle de doenças foliares são os triazóis e as estrobilurinas (AGROFIT, 2019). As estrobilurinas agem na respiração mitocondrial dos patógenos, sendo o controle mais eficiente na germinação dos esporos e no início da infecção. Os triazóis, por sua vez, agem na biossíntese de ergosterol, constituinte da membrana celular do patógeno, e atuam no controle em fases mais desenvolvidas do ciclo do patógeno, como a colonização e a pré-esporulação (WORDELL FILHO; CHIARADIA; BALBINOT JR, 2012).

O uso em larga escala do controle químico tem gerado problemas em relação a questões ambientais, como contaminação do solo, da água, de alimentos, intoxicação de humanos e animais, além de ocasionar a resistência de alguns patógenos devido ao uso contínuo dos mesmos princípios ativos. Devido a isso, alternativas de controle de doenças estão sendo desenvolvidas, entre as quais destaca-se o controle biológico (MORANDI et al., 2009).

2.5 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico consiste na utilização de um microrganismo no controle de outro microrganismo. O controle biológico de doenças ocorre devido a interações entre o microrganismo biocontrolador e os agentes patogênicos, sendo essas interações divididas em: antibiose, competição, parasitismo, hipovirulência, predação e indução de resistência das plantas (BETTIOL; GHINI, 2009).

A antibiose ocorre quando uma ou mais moléculas produzidas pelo microrganismo biocontrolador tem impacto sobre o patógeno. A competição é a interação na qual ocorre a disputa entre os organismos biocontroladores e os patógenos, por fatores limitantes como espaço e nutrientes. O parasitismo ocorre quando um organismo utiliza-se dos constituintes do outro como fonte de alimento. A predação ocorre quando o biocontrolador alimenta-se de patógenos e de outras fontes. A hipovirulência é caracterizada pela inserção de uma linhagem com menor potencial de agressividade, com o objetivo de transmitir essa característica para as linhagens patogênicas. Já a indução de resistência, consiste na ativação de

mecanismos de proteção das plantas, através de microrganismos ou de seus metabólitos (BETTIOLO; GHINI, 1995).

Os fungos e as bactérias estão entre os microrganismos mais estudados para controle biológico de doenças. Entre os fungos destaca-se o gênero *Trichoderma*, que são microrganismos de vida livre, habitantes naturais dos solos de regiões de clima tropical e temperado (RIBEIRO, 2009). No Brasil, as espécies de *Trichoderma* mais utilizadas no controle biológico são *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. stromaticum* e *T. viride* (MORANDI et al., 2009). Esses microrganismos são eficazes na redução de danos causados por fungos fitopatogênicos presentes no solo, entre os quais estão os gêneros *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* e *Sclerotinia* (POMELLA; RIBEIRO, 2009) e atuam no biocontrole através de mecanismos de ação, como a antibiose, a competição e o parasitismo (REIS et al., 2013).

Em estudos realizados com o uso de fungos do gênero *Trichoderma* na cultura da batata, o biocontrolador demonstrou-se eficiente proporcionando aumento na qualidade das batatas, devido a diminuição de danos causados pelo patógeno *Streptomyces scabies* (POMELLA; RIBEIRO, 2009). Na cultura do milho a linhagem T-22 de *Trichoderma harzianum* apresentou eficácia na indução de resistência sistêmica a agentes patogênicos (ALTOMARE et al., 1999).

Além dos fungos, a utilização de procariotos no controle biológico de doenças tem ganhado espaço. Os gêneros de bactérias que tem mostrado maior potencial de biocontrole de patógenos são: *Pseudomonas* (principalmente as espécie *P. fluorescens* e *P. putida*), *Bacillus* spp. e *Streptomyces* spp. (SILVA et al., 2008).

O gênero *Bacillus* é formado por bactérias habitantes naturais do solo, capazes de formar endósporos, muito resistentes a condições adversas. (RATZ, 2014; LIMA, 2010). Uma das espécies mais pesquisadas do gênero *Bacillus* é *Bacillus subtilis*, que apresenta alta capacidade de habitar várias partes da planta, como tecidos internos, tecidos externos e também o sistema radicular (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010). A bactéria *B. subtilis* possui grande eficiência na inibição e no controle de vários patógenos, através da produção de antibióticos, enzimas e fitormônios, que agem na germinação de esporos e, também impedem que o agente patogênico se instale nas folhas, devido à presença de uma área de inibição, além de promover a indução de resistência nas plantas (MAZZUCHELLI; SOSSAI; ARAUJO, 2014; D' AGOSTINO; MORANDI, 2009).

Em testes *in vitro* realizados por Melo e Valarini (1995), foi constatado a ação antagonista de dois isolados de *B. subtilis*, sobre o crescimento micelial do patógeno *Fusarium solani*. Já Figueiredo et al. (2010), constataram atividade inibitória do isolado CNPMS-22 de *Bacillus subtilis* sobre agentes patogênicos da cultura do milho e do sorgo.

Araujo (2008) concluiu que a inoculação de sementes de milho com *Bacillus subtilis* proporcionou aumento na área foliar e na altura das plantas. Lima et al. (2011), encontraram efeitos positivos da inoculação com *B. subtilis* sobre o desenvolvimento da cultura do milho o que resultou em espigas maiores e no aumento da produtividade de grãos. A inoculação de *B. subtilis* mostrou-se eficiente no aumento da biomassa do sistema radicular, de plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz (CHAGAS et al., 2017). Na cultura do milho, diferentes linhagens de *Bacillus* apresentaram eficácia na promoção de crescimento (ARAUJO; GUERREIRO, 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado durante o período de novembro de 2018 e abril de 2019 na área experimental da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo, localizado na região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul, cujas características geográficas são: altitude média: 254 metros, 54°45'31,84" O e 28°08'31,32" S. O clima do local é classificado como "Cfa", ou seja, subtropical úmido, segundo a classificação de Köppen (KUNINCHTNER; BURRIOL, 2001). O solo do local é classificado como um Latossolo Vermelho e pertence a Unidade de Mapeamento Santo Ângelo (EMBRAPA, 2006).

3.2 COLETA DE SOLO E PREPARO DA ÁREA

Antes da implantação do experimento foi realizado a coleta de amostras para a realização de análise química do solo, na profundidade de 0 a 20 cm com utilização de pá-de-corte, foram coletadas 15 subamostras de solo de forma aleatória em diferentes pontos da área do experimento. As amostras foram encaminhadas ao laboratório de análises de solos da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, os parâmetros observados estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 - Laudo de análise química do solo da área onde foi conduzido o experimento.

Parâmetros	Teor
pH água (1:1)	6,2
Ca (cmol _c dm ⁻³)	5,5
Mg (cmol _c dm ⁻³)	2,5
Al (cmol _c dm ⁻³)	0,0
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	2,2
CTC efet. (cmol _c dm ⁻³)	8,7
Al (%)	0,0
V (%)	79,6
Índice SMP	6,6
M.O (%)	2,4
Argila (%)	48,0
Textura	2,0
P-Mehlich (mg dm ⁻³)	21,7
K (cmol _c dm ⁻³)	0,65
CTC pH7 (cmol _c dm ⁻³)	10,9
K (mg dm ⁻³)	256,0

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

A cultura antecedente ao milho, no local do experimento, foi o consórcio de nabo, ervilhaca e aveia. A adubação da cultura do milho foi realizada baseada na interpretação da análise química do solo (Tabela 1), considerando o milho como primeiro cultivo e com estimativa de produtividade de 8 toneladas por hectare, sendo utilizados 110 kg de N ha⁻¹, 120 kg de P₂O₅ ha⁻¹ e 20 kg de K₂O ha⁻¹. As aplicações do N foram realizadas de forma parcelada, sendo aplicados 30 kg ha⁻¹ na semeadura, e o restante da dose dividida e aplicada em cobertura nos estádios fenológicos V4 e V8.

Para o preparo do local do experimento, primeiramente foi realizado a roçada das plantas de cobertura com utilização de triturador de palha da marca Tritton 2.300, e após foi efetuado o preparo do solo que consistiu em uma gradagem pesada com utilização de grade aradora para eliminar plantas daninhas e incorporar os restos culturais, e duas gradagens leves com grade niveladora-destorroadora à fim de nivelar e destorroar a área de implantação do experimento. As parcelas foram riscadas com auxílio da semeadora-adubadora compacta KF/50-A, sem as rodas compactadoras, para a visualização das linhas de semeadura, bem como para a incorporação do adubo ao solo.

3.2 TRATAMENTOS E IMPLANTAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido em delineamento blocos ao acaso (DBC), com 4 repetições, sendo formado por 32 unidades experimentais que mediram 5 m de comprimento x 2,5 m de largura as quais foram, constituídas por 5 linhas com espaçamento de 0,5 m e 5 m de comprimento. Para a área útil de cada parcela considerou-se as 3 linhas centrais, desprezando-se 0,5m nas extremidades de cada linha, perfazendo o total de 6 m².

Foram utilizadas sementes de milho da cultivar SHS 5050 que é um híbrido de ciclo superprecoce, com tecnologia convencional e, apresenta tolerância média as doenças foliares *Puccinia sorghi*, a *Puccinia polysora*, *Phaeospharia maydis* e, *Cercospora zea-maydis* (SHS,2019). A semeadura foi realizada de forma manual, em 5 linhas marcadas previamente pela semeadora-adubadora, depositando-se 3 sementes por metro linear com espaçamento de 33 cm entre sementes, totalizando numa população final de 60 mil plantas ha⁻¹.

Para a microbiolização de sementes foram utilizados os isolados bacterianos

LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.), LABMID UFFS 16 e, LABMID UFFS 27, pertencentes ao acervo de isolados do Laboratório de Manejo Integrado de Doenças (LABMID UFFS), sendo utilizados separados ou em combinação entre si, mediante prévia verificação da compatibilidade da mistura. Para tanto, os isolados foram repicados para placas de Petri, contendo meio de cultura ágar nutriente, 48 horas antes do tratamento das sementes, sendo as placas de Petri incubadas em estufa em temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Para o preparo da suspensão utilizou-se solução salina (0,85% NaCl), sendo realizado a raspagem dos isolados com uma alça de Drigalski, posteriormente foi efetuado a calibragem das suspensões através de espectrofotometria para $\text{OD}_{540} = 0,5$ nanômetros.

Sementes de milho foram separadas em sacos plásticos sendo depositados 6,25 mL de suspensão/kg de sementes, sendo para os tratamentos combinados, utilizadas quantidades iguais de suspensão de cada isolado. As sementes usadas como testemunha receberam apenas 6,25 mL de solução salina (0,85% NaCl)/kg de sementes. Após a aplicação, os sacos foram agitados e, quando as sementes estavam secas, foram, colocadas em caixa térmica de isopor até o momento da semeadura.

Figura 1 - Croqui de distribuição dos tratamentos na área do experimento.

BLOCO			
1	2	3	4
T2	T7	T4	T6
T7	T4	T5	T3
T3	T5	T2	T1
T8	T3	T6	T7
T4	T6	T3	T8
T6	T8	T1	T4
T5	T1	T8	T2
T1	T2	T7	T5

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Sendo:

T1: Isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.)

T2: Isolado LABMID UFFS 16.

T3: Isolado LABMID UFFS 27.

T4: Testemunha

T5: Isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) + Isolado LABMID UFFS 16.

T6: Isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) + Isolado LABMID UFFS 27.

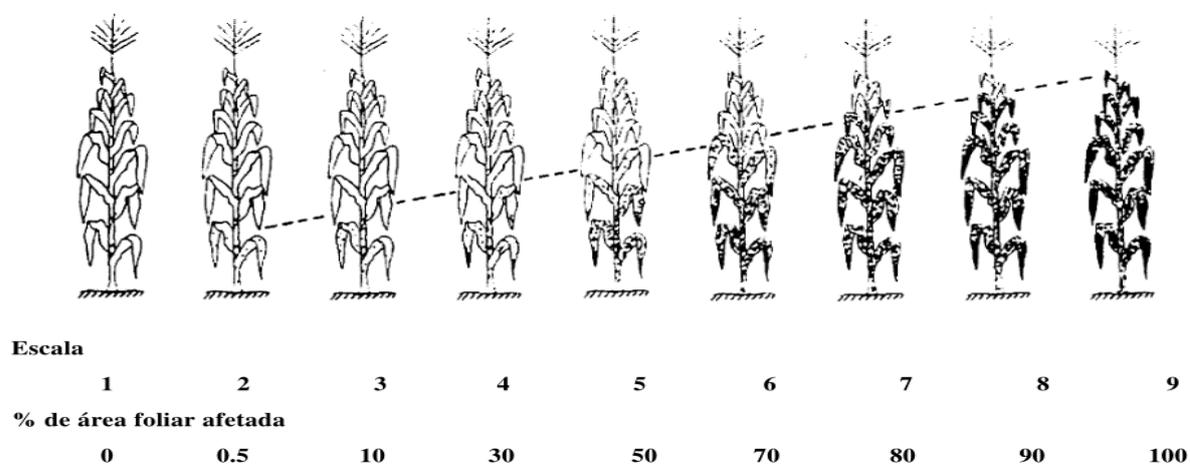
T7: Isolado LABMID UFFS 16 + Isolado LABMID UFFS 27.

T8: Isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) + Isolado LABMID UFFS 16 + Isolado LABMID UFFS 27.

3.3 AVALIAÇÕES

Quando as plantas atingiram o estágio fenológico R1 (pendoamento) deu-se início as avaliações de severidade das manchas foliares, sendo as mesmas realizadas com intervalos de sete dias, totalizando 8 avaliações. Para tanto, foram, escolhidas aleatoriamente 10 plantas na área útil de cada parcela sendo estas marcadas e numeradas, para avaliação das mesmas plantas durante todo o experimento. As plantas foram avaliadas por meio de escala de notas que variou de 1 a 9, respectivamente para 0%, 0,5%, 10%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90% e 100% de área foliar afetada (Figura 2) (AGROCERES,1996).

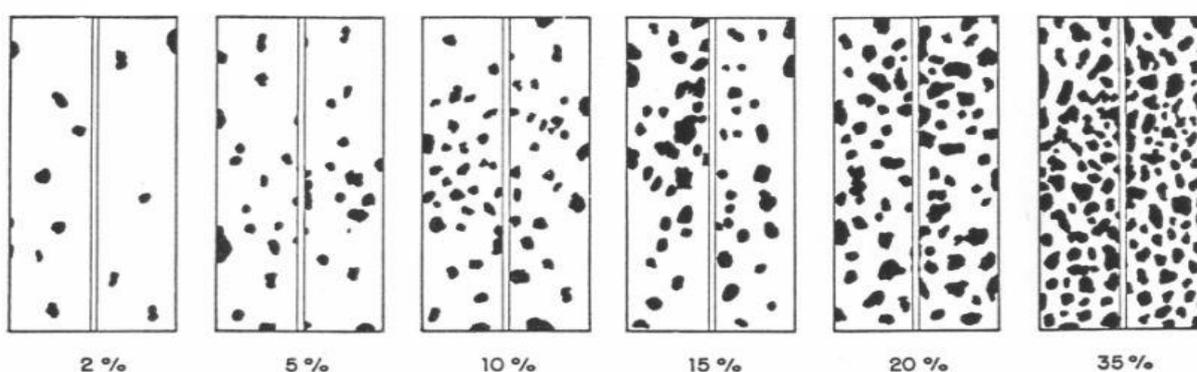
Figura 2 - Escala diagramática para avaliação da severidade de manchas foliares.



Fonte: Agrocerec (1996).

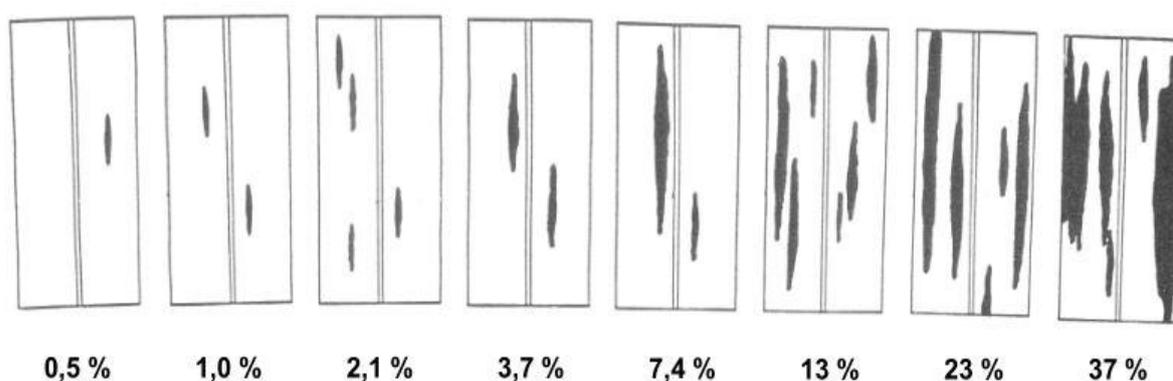
As doenças mancha branca e helmintosporiose foram avaliadas na folha da espiga, a partir do aparecimento dos primeiros sintomas, através de escalas específicas a cada doença (Figura 3 e 4).

Figura 3 - Escala diagramática para a avaliação da severidade de mancha-branca em milho.



Fonte: Depto Fitopatologia/ESALQ (1996) apud Fantin (2012).

Figura 4 - Escala diagramática para a avaliação da severidade de helmintosporiose em milho.



Fonte: Depto Fitopatologia/ESALQ (1996) apud Fantin (2012).

Após a realização das avaliações, os valores obtidos em AFA (área foliar afetada) foram utilizadas para calcular a Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD), conforme a equação proposta por Campbell e Madden (1990):

$$AACPD = \sum_i^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Onde:

y_i : severidade da doença na época da avaliação i ($i=1, \dots, n$)

y_{i+1} : severidade da doença na época da avaliação $i+1$

$t_{i+1} - t_i$: intervalo (dias) entre as avaliações

n : número total de avaliações.

Durante o estágio fenológico R1 (pendoamento) as plantas selecionadas anteriormente para a avaliação das doenças, foram utilizadas para avaliação dos caracteres morfológicos: altura de plantas, altura de inserção da primeira espiga, o diâmetro do colmo e distância de entrenós. Para a avaliação da altura de planta foi realizada a medição da superfície do solo até a inserção da última folha verdadeira (folha bandeira), utilizando trena milimétrica. Na medição da altura de inserção da primeira espiga, as medidas foram realizadas da superfície do solo até à base da primeira espiga, utilizando trena milimétrica. A distância entrenós foi medida entre o primeiro e segundo nó visível acima da superfície do solo, utilizando trena milimétrica. Os diâmetros do colmo foram medidos com paquímetro digital, entre o primeiro e segundo nó visível a partir da superfície do solo, foram realizadas duas medições, sob os dois lados do colmo, e foi obtido a média entre os valores observados (adaptado de FARINELLI; LEMOS, 2010).

Quando as plantas atingiram o estágio de maturação para a colheita, foram escolhidas aleatoriamente 3 espigas por parcela para a realizar as seguintes avaliações: número de fileiras por espiga e número de grãos por espiga, mediante contagem manual.

As plantas foram colhidas manualmente e debulhadas com auxílio de debulhadora manual para quantificar a produtividade do milho em $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ com correção da umidade para 13% utilizando o método da estufa a 105°C por 24 horas. Para, determinação da massa de mil grãos (MMG) foram pesadas 8 amostras de 100 grãos, com umidade corrigida para 13% (BRASIL, 2009).

Os dados obtidos a partir da avaliação de cada uma das variáveis foram

submetidos a análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do software Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os valores obtidos para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para as manchas foliares e para a mancha branca, não foi possível observar diferença significativa entre os isolados bacterianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si, no entanto, houve diferença entre esses e a testemunha (Tabela 2), sendo que no tratamento onde se utilizou o isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) foi observado a redução na severidade de manchas foliares e mancha-branca em respectivamente 48 e 52% em relação a testemunha. A eficiência de procariotos no biocontrole de doenças já foi relatada em várias culturas como soja (SHIOMI; FERREIRA; MELO, 2017), arroz (LUDWIG; MOURA, 2007) feijoeiro (GARCIA; ROMEIRO, 2011) morango (HELING; KUHN; STANGARLIN, 2015) e melão (SANTOS et al., 2006).

Tabela 2- Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de manchas foliares, mancha branca e helmintosporiose de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos microbianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si.

Tratamento	Manchas foliares	Mancha-branca	Helmintosporiose
RD 34	39,44 a*	16,59 a	9,43 a
16	48,51 a	18,53 a	11,25 ab
27	46,31 a	20,92 a	10,79 ab
RD 34 + 16	43,08 a	16,98 a	14,59 ab
RD 34 +27	46,64 a	17,73 a	10,19 ab
16 + 27	45,84 a	16,78 a	7,87 a
RD 34 + 16 + 27	49,70 a	20,26 a	8,41 a
Testemunha	76,25 b	34,68 b	20,26 b
CV (%)	12,90	25,2	38,43

*Médias dos tratamentos seguidas por mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de significância.

Com relação a AACPD da helmintosporiose, os tratamentos onde se utilizou os isolados LABMID UFFS 16 + LABMID UFFS 27, LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) + LABMID UFFS 16 + LABMID UFFS 27 e apenas o isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.), mostraram o menor progresso da doença e diferiram significativamente da testemunha chegando a reduzir a doença em aproximadamente 61, 58 e 53% em relação a testemunha, respectivamente, sendo que os demais tratamentos

bacterianos não diferiram desses e nem da testemunha (Tabela 2). Apesar dos resultados satisfatórios obtidos com o isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.), a combinação tripla dos isolados intensificou o efeito do controle, conforme já observado em feijão (CORRÊA; SCHAFER; MOURA, 2014) e arroz (SOUZA JÚNIOR et al; 2017).

Entre os gêneros de bactérias antagonistas mais prevalentes, destacam-se os gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Streptomyces* (ROBBS, 1991). A aplicação de bactérias biocontroladoras via microbiolização de sementes parece ser uma estratégia bastante eficiente, cujo principal mecanismo de ação envolvido quase sempre é a indução de resistência, devido a sistemicidade do controle observado (ROMEIRO; GARCIA, 2009). Porém, Sartori et al., (2017), ao aplicarem agentes de controle biológico via pulverização foliar, observaram efeito significativo de oito isolados utilizados no controle da helmintosporiose nas folhas do milho, garantindo reduções de até 56% em relação a testemunha (sem tratamento).

Em plantas, a supressão de doenças pode estar relacionada a diversos mecanismos, como a antibiose cujos agentes de biocontrole a exibem com frequência sendo considerada um mecanismo universal de antagonismo (BARRA et al., 2008). A competição que seria a habilidade dos biocontroladores em ocuparem-excluírem nichos ecológicos e/ou competirem por nutrientes, especialmente por sideróforos (BLOEMBERG; LUGTENBERG, 2001). O parasitismo onde há o envolvimento de enzimas líticas produzidas pela espécie parasita, que degradam a parede celular dos fungos fitopatogênicos (LUZ, 1996). E, a indução de resistência sistêmica onde é possível identificar um aumento da produção, principalmente, das PR proteínas (proteínas relacionadas a patogênese) (ZDOR; ANDERSON, 1992) ocorrendo não apenas no sítio de indução mas à distância, de forma mais ou menos generalizada na planta (SILVEIRA, 2001).

Para as características agrônômicas de crescimento das plantas (altura de plantas, altura de inserção da primeira espiga, diâmetro de colmo e distância de entrenós) não foi observada diferença significativa entre os tratamentos microbianos e a testemunha em nenhuma das variáveis obtidas (Tabela 3). Procariotos com potencial para o biocontrole, com destaque para espécies de *Pseudomonas* e *Bacillus*, frequentemente podem atuar promovendo o crescimento de plantas tanto diretamente pela produção de fitohormônios, mineralização de nutrientes, solubilização de

fosfatos, fixação do nitrogênio entre outros (MARIANO; KLOEPPER, 2000), quanto indiretamente via mecanismos de biocontrole quando a planta está sendo infectada por um patógeno (MARIANO et al., 2004), no entanto, isso não foi observado no presente trabalho.

Tabela 3 – Altura de plantas (m), Altura de inserção da primeira espiga (m), Diâmetro do colmo (cm) e distância de entrenós (cm) de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos microbianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si.

Tratamento	Altura de plantas	Altura de inserção da 1ª espiga	Diâmetro do colmo	Distância de entrenós
RD 34	1,98 ^{ns}	1,14 ^{ns}	2,44 ^{ns}	9,05 ^{ns}
16	1,98	1,17	2,49	9,75
27	1,98	1,14	2,42	9,23
RD 34 + 16	1,95	1,11	2,56	8,85
RD 34 +27	1,96	1,13	2,48	9,55
16 + 27	1,93	1,08	2,56	9,01
RD 34 + 16 + 27	1,97	1,14	2,43	9,74
Testemunha	1,91	1,07	2,43	9,48
CV (%)	3,49	6,68	2,91	6,13

* ns= diferenças não significativas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de significância.

No que se refere a altura de plantas, nenhum dos tratamentos diferiu entre si nem da testemunha (Tabela 3). O efeito positivo da inoculação com rizobactérias para essa característica em milho foi observado por Cardoso et al. (2008), divergindo dos resultados obtidos neste estudo. Por outro lado, Lima et al. (2011), não encontraram diferença significativa entre os tratamentos com e sem inoculação de *Bacillus subtilis* sobre essa mesma variável. A característica de altura de planta é fortemente influenciada pelo genótipo utilizado (ZUCARELI et al., 2013), o que pode explicar a ausência de efeitos significativos com a aplicação dos tratamentos biológicos.

Em relação à altura de inserção da primeira espiga, a diferença obtida não foi significativa entre os tratamentos (Tabela 3). Resultados semelhantes foram encontrados por Zucareli et al. (2011) que não detectaram, em estudo referente à eficiência agrônômica do inoculante à base de *Pseudomonas fluorescens* em plantas de milho conduzido a campo, alteração na altura da inserção da primeira espiga, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo. A não alteração da altura de inserção da espiga pode ser benéfica, devido a maior suscetibilidade ao

acamamento de plantas com alturas maiores de inserção da espiga (SIQUEIRA et al., 2009).

Considerando a variável diâmetro de colmo, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 3), corroborando em parte com os resultados obtidos por Heller et al. (2018) em cana-de-açúcar, que também não observaram incremento dessa variável na cultura, utilizando alguns isolados bacterianos não identificados. Por outro lado, em milho, quando as sementes foram microbiolizadas com *Pseudomonas fluorescens* estirpe 1008 foi possível observar influência significativa sobre essa mesma variável (CHAVES; ZUCARELI; OLIVEIRA JUNIOR, 2013). Mesmo que não tenham sido encontrados aumentos no diâmetro do colmo no presente trabalho, incrementos dessa variável-resposta são importantes para evitar acamamentos de plantas, além de ser uma característica que permite ganhos em produtividade, pelo motivo de permitir maior armazenamento de fotoassimilados que auxiliam no enchimento de grãos das espigas (KAPPES et al., 2013).

Quanto ao número de fileiras por espiga e números de grãos por espiga não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 4), no entanto, observa-se que para a variável número de grãos por espiga, o tratamento com o isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) obteve uma produtividade de 117 grãos por espiga a mais em relação a testemunha. De acordo com Fancelli; Dourado-Neto (1997), essas variáveis resposta são determinadas ainda na segunda semana após a emergência da cultura do milho, ou seja, quando se inicia a formação dos primórdios da espiga, sendo altamente influenciadas pela falta de água e nutrientes. Assim, corroborando com as conclusões de Zucareli et al. (2011) que, como as condições ambientais foram favoráveis e a disponibilidade de nutrientes no solo atendeu as necessidades da cultura durante todo o período de condução do experimento, a microbiolização das sementes com os procaríotos, utilizados separadamente ou em combinação entre si, não demonstrou resultado expressivo, ou seja, não houve influência desses tratamentos sobre essas características.

Tabela 4 - Número de fileiras por espiga e número de grãos por espiga de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos microbianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si.

Tratamento	Nº de fileiras/espiga	Nº grãos/espiga
RD 34	17,00 ^{ns}	619,25 ^{ns}
16	15,50	542,25
27	15,34	537,50
RD 34 + 16	17,34	578,00
RD 34 +27	15,67	554,25
16 + 27	16,17	556,75
RD 34 + 16 + 27	16,33	559,25
Testemunha	16,67	502,50
CV (%)	7,18	9,46

^{ns}= diferenças não significativas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de significância.

Para a massa de mil grãos (MMG) a maior média foi observada para o tratamento a base da mistura tripla LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) + LABMID UFFS 16 + LABMID UFFS 27, no entanto, esse tratamento não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos com isolados bacterianos, mas foi o único que diferiu da testemunha (Tabela 5). A partir da promoção de crescimento proporcionado por alguns isolados bacterianos, com conseqüente aumento do número de pelos radiculares, há uma ampliação da área superficial com maior absorção de água e nutrientes o que, por sua vez, afeta o desenvolvimento da parte aérea favorecendo o rendimento das culturas (HARTHMANN et al., 2010). O reflexo disso pode ocorrer na MMG conforme observado anteriormente em milho (OLIVEIRA et al., 2012) e em feijão (ZUCARELI et al., 2018).

Quanto a produtividade, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos microbianos (Tabela 5), corroborando com outros trabalhos realizados com a aplicação de procariotos em sementes de milho como de Zucareli et al. (2011) que, utilizando um inoculante a base de *P. fluorescens* em milho não encontraram diferenças significativas quanto a produtividade em plantas tratadas ou não com o referido inoculante e, de Mazzuchelli; Sossai; Araujo (2014) que aplicando um produto comercial a base de *Bacillus subtilis*, tanto na semente quanto no sulco de semeadura, não observaram efeitos significativos sobre essa mesma variável. Por outro lado, no trabalho de Lima et al. (2011) foi constatado que a inoculação das sementes com *B. subtilis* aumentou a produtividade de grãos do milho.

Vale destacar que, mesmo que microbiolização de sementes não tenha influenciado estatisticamente na produtividade, observa-se que o tratamento com o isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) atingiu a produtividade de 10.015 kg ha⁻¹ enquanto a testemunha obteve produtividade de 9.169 kg ha⁻¹, ou seja, teve um aumento na produtividade de 846 kg ha⁻¹, aproximadamente 14 sacas por hectare, gerando um ganho de R\$ 476,00 por hectare cultivado.

Tabela 5 – Massa de mil grãos (MMG) (g), e produtividade (kg.ha⁻¹) de plantas de milho submetidas a diferentes tratamentos microbianos, utilizados separadamente ou em combinação entre si.

Tratamento	MMG	Produtividade
RD 34	372,73 ab*	10.015 ^{ns}
16	376,82 ab	9.367
27	376,10 ab	9.269
RD 34 + 16	371,67 ab	9.857
RD 34 +27	384,40 ab	9.819
16 + 27	370,89 ab	9.366
RD 34 + 16 + 27	386,63 a	8.420
Testemunha	363,17 b	9.169
CV (%)	2,52	8,29

*Médias dos tratamentos seguidas por mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de significância.

^{ns}= diferenças não significativas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de significância.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A microbiolização das sementes de milho é capaz de reduzir o progresso da severidade de manchas foliares, da mancha-branca e da helmintosporiose na cultivar SHS 5050.

Não houve efeito significativo da microbiolização das sementes nos componentes de crescimento e de rendimento das plantas, com exceção da massa de mil grãos, onde o tratamento com a mistura tripla LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) + LABMID 16 + LABMID 27 apresentou a maior média diferindo significativamente da testemunha. Apesar de não serem observadas diferenças significativas na produtividade, o tratamento com o isolado LABMID UFFS RD 34 (*Bacillus* sp.) obteve uma produtividade de 846 kg ha⁻¹ superior em relação a testemunha.

REFERÊNCIAS

- AGROCERES. **Guia agroceres de sanidade**. São Paulo: Sementes Agroceres, 1996. 72p.
- AGROFIT **Agrofit: Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 23 mar. 2019.
- ALTOMARE, C. et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.65, p.2926-2933, 1999.
- ARAUJO, F. F.; GUERREIRO, R. T. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* promotores de crescimento de milho cultivado em solo autoclavado e natural. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.4, p.837-844, 2010.
- ARAUJO, F.F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.2, p.456-462, 2008.
- BARRA, V. R. et al., Potencialidade antagonística detectada em alguns procariotas agentes de biocontrole de enfermidades de plantas. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n.2, p. 121-126, 2008.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle biológico. In: FILHO, A.B.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. Volume 1: terceira edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Impactos das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente. 2009. 341 p.
- BEZERRA, G. A. et al. Uso de *Bacillus* spp. no controle de fitopatógenos em sementes de soja variedade BRS Valiosa RR. **Agroecossistemas**, v. 5, n. 1, p. 68-73, 2013.
- BLOEMBERG, G.V.; LUGTENBERG, B.J.J. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**, v.4, n.4, p.343-350, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. (Ed.). **Introduction to plant disease epidemiology**. New York, NY: Wiley, 1990. 532p.
- CARDOSO, I. C. M. et al. Resposta de milho (*Zea mays* L.) precoce a inoculação de rizobactérias em casa-de-vegetação. In: **Reunião Brasileira de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas**, Londrina. SBCS, 2008.

- CARNEIRO, M. A. B. et al. Utilização de *Bacillus* no controle de *Colletotrichum* sp. em seringueira. **Summa Phytopathologica**. Botucatu. v.43. 2017.
- CASELA, C. R.; FERREIRA, A. da S.; PINTO, N. F. J. de. A. **Doenças na cultura do milho**. Circular técnica n. 83. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. 2006.
- CHAGAS, J.F.R. **Principais doenças foliares da cultura do milho no estado do Tocantins**. Circular técnica n. 213. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. 2015.
- CHAGAS, L. F. B. et al. *Bacillus subtilis* e *Trichoderma* sp. no incremento da biomassa em plantas de soja, feijão-caupi, milho e arroz. **Revista Agri-Environmental Sciences**, Palmas-TO, v. 3, n. 2, 2017.
- CHAVES, D. P.; ZUCARELI, C.; OLIVEIRA JUNIOR, A. Fontes de fósforo associadas à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* no desenvolvimento e produtividade do milho. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 34, n. 1, p. 57-72, 2013.
- COELHO, A. M. et al. **Cultivo do milho: Nutrição e Adubação**. Comunicado técnico n.44. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. 2002.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimentos, **Grãos**, V. 6 - SAFRA 2018/19 - N. 12 – Décimo segundo levantamento, Set. 2019.
- CORRÊA, B. O.; SCHAFER, J.T.; MOURA, A. B. Spectrum of biocontrol bacteria to control leaf, root and vascular diseases of dry bean. **Biological Control**. v.72, 2014, p. 71-75.
- COTA, L. V. et al. **Histórico e perspectivas das doenças na cultura do milho**. Circular técnica n.193, Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. 2013.
- CRUZ, J. C. et al. Cultivo do milho. **Sistemas de produção**, 2, versão eletrônica, 6 ed. 2010.
- CRUZ, J. C. et al. **Manejo da cultura do milho**. Circular técnica n.87. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. 2006.
- D' AGOSTINO, F.; MORANDI, M. A. B. Análise da viabilidade comercial de produtos à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* para o controle de fitopatógenos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente. 2009. 341 p.
- DAMBRÓS, R.N. **Avaliação do desempenho de semeadoras de milho com diferentes mecanismos dosadores**. 1998. 86 f. Dissertação – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 1998.
- DORIGHELLO, D. V. **Controle da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) com óleo de café e *Bacillus* spp.** 2013. 55 f. (Mestrado em Agronomia – Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP. Botucatu-SP. 2013.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. – Rio de Janeiro: EMBRAPA-SPI, 2006.

FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. Milho: Ecofisiologia e rendimento. In: Fancelli, A.L.; Dourado-Neto, D., (coords.). **Tecnologia da produção de milho**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. p.157-170.

FANTIN, G. M. **Severidade de doenças foliares e resposta de cultivares ao uso de fungicidas**. Instituto Biológico. São Paulo. 2012.

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B. Produtividade e eficiência agrônômica do milho em função da adubação nitrogenada e manejos do solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, n.2, p.135-146, 2010.

FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. **Principais doenças na cultura do milho**. Circular técnica n.26. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG, 1997.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**. v.35, n.6, Lavras. 2011.

FIGUEIREDO, J. E. F. et al. **Atividade antagonista in vitro de *Bacillus subtilis* contra fungos fitopatogênicos do milho e sorgo**. XXVIII Congresso Nacional do Milho e Sorgo, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. 2010.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Funep, 2007. 574 p.

FRANÇA-NETO, J. B. et al. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Documentos n.380. Embrapa soja. Londrina, PR, 2016.

GARCIA, F. A. O.; ROMEIRO, R. S. Biocontrole da mancha-angular do feijoeiro por antagonistas bacterianos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília.v.46, n.12, p.1603-1608, 2011.

GLORIA, E. M.; DOMINGUES, M. A. C. Qualidade do milho é classificada por padrões oficiais, de acordo com o uso. **Visão agrícola**, n.13, 2015.

GRIGOLLI, J. F. J. **Doenças do milho safrinha**. Tecnologia e Produção: Milho safrinha. Fundação MS. 2017.

HARTHMANN, O.E.L. et al. Rizobactérias no crescimento e na produtividade da cebola. **Ciência Rural**, vol. 40, n. 2, p. 462-465, 2010.

HELING, A. L.; KUHN, O. J.; STANGARLIN, J. R. Controle biológico de *Mycosphaerella fragariae* na cultura do morangueiro. **Scientia Agraria Paranaensis**. Marechal Candido Rondon, v.14, n.4, p.221-228, 2015.

HELLER, E. et al. **Promoção de crescimento de cana-de-açúcar por rizobactérias em solo infestado por fitonematoides sob condições de campo**. XXVII Congresso de Iniciação Científica. 4ª Semana Integrada. UFPEL, 2018.

KAPPES, C. et al. **Aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em cobertura no milho safrinha**. XIII Seminário Nacional do Migo Safrinha. 2013.

KIMATI, H. Controle químico. In: FILHO, A.B.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. Volume 1: terceira edição. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995.

KUINCHTNER, A.; BURIOL, G. Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a

classificação de Koppen e Thornthwaite. **Disciplinarum Scientia**, v. 2, n. 1, p. 171-182, Santa Maria, 2001.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, 2010.

LIMA, F. F. **Bacillus subtilis e níveis de nitrogênio sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho**. 2010. 52 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de concentração: Produção Vegetal). Universidade Federal do Piauí. Teresina, PI, 2010.

LIMA, F. F. et al. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.6, n.4, p.657-661. Recife, PE. 2011.

LUDWIG, J.; MOURA, A. B. Controle biológico da queima-das-bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas. **Fitopatologia Brasileira** 32:381-386. 2007.

LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p.1-49, 1996.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da produção de milho**. Circular técnica n. 76. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sete Lagoas, MG. 2006.

MARIANO, R. L. R. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, Recife, v. 1, p.89-111. 2004.

MARIANO, R.L.R.; KLOEPPER, J.W. Método alternativo de biocontrole: resistência sistêmica induzida por rizobactérias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 8, p. 121-137, 2000.

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

MELLO, I. S.; VALARINI, P. J.; Potencial de rizobactérias no controle de *Fusarium solani* (Mart) Sacc. em pepino (*Cucumis sativum* L.). **Scientia agrícola**, Piracicaba, 1995.

MICHEREFF, S. J. **Controle genético de doenças de plantas**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia (Área de Fitossanidade), 2014.

MORANDI, M. A. B. et al. **Controle biológico de fungos fitopatogênicos**. Informe Agropecuário, v.30, n.251, Belo Horizonte, 2009.

OLIVEIRA, M.A. et al. Desempenho agrônomico do milho sob adubação mineral e inoculação das sementes com rizobactérias. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n. 10, p. 1040-1046, 2012.

PACCOLLA-MEIRELLES, L. D. et al. Reaction of maize inbred lines to the bacterium *Pantoea ananas* isolated from *Phaeosphaeria* leaf spot lesions. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.2, n.4, 2002.

PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho. In: KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda. 1997.

PIONEER. **Manejo de milho para altos rendimentos**. 2014. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/180/manejo-de-milho-para-altos-rendimentos>>. Acesso em: 22 mar. 2019.

POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas - uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente. Cap. 15. p. 238-244. 2009.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília, DF. 2 ed. 1985. 289 p.

RATZ, R. J. **Uso de bactérias do gênero *Bacillus* como promotoras de crescimento para a cultura do milho e da soja**. 2014. 59 f. Dissertação (Engenheira Química), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2014.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BIANCHIN, V. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.37, n.3, p.85-91, 2011.

REIS, E. M.; FORCELINI, C.A. Controle cultural. In: FILHO, A.B.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. Volume 1: terceira edição. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 1995.

REIS, M. R. et al. Impacto de herbicidas em isolados de *Trichoderma* spp. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v.31, n.2, p.419-426, 2013.

RIBEIRO, T. S. **O fungo *Trichoderma* spp. no controle de fitopatógenos: dificuldades e perspectivas**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu*, Porto Alegre, RS, 2009.

ROBBS, C.F. Bactérias como agentes de controle biológico de fitopatógenos. In: Bettiol, W (Org). **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna. EMBRAPA/CNPDA. p.121-133.1991.

ROMEIRO, R. S.; GARCIA, F. A. O. Indução de resistência em plantas a patógenos por eliciadores de natureza bacteriana. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente. Cap. 6, 2009. 341 p.

SANTOS, E. R. et al. Controle biológico da mancha-aquosa do melão por compostos bioativos produzidos por *Bacillus* spp. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 376-378, 2006.

SARTORI, M. et al. Efficacy of epiphytic bacteria to prevent northern leaf blight caused by *Exserohilum turcicum* in maize. **Revista Argentina de Microbiología**. v. 49, Issue 1, p.75-82, 2017.

SHIOMI, H. F. **Bios prospecção de bactérias endofíticas como agentes de biocontrole da mancha de *Exserohilum turcicum* e como promotoras do crescimento de plantas de milho (*Zea mays* L.)**. 2007. 74 f. Tese (Obtenção do título de Doutor em Agronomia – Proteção de Plantas). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu. Botucatu, SP. 2007.

SHIOMI, H. F.; FERREIRA, M. V. R.; MELO, I. S. Bioprospecção de isolados bacterianos para o controle biológico do mofo branco na soja. **Scientific Eletronic Archives**. v.10. 2017.

SHS. Santa Helena Sementes. **Catálogo de produtos**. Disponível em: <<http://santahelenasementes.com.br/produtos/shs-5050/>> Acesso em: 26 out. 2019.

SILVA, J. R. C. et al. Bactérias endofíticas no controle e inibição *in vitro* de *Pseudomonas syringae pv tomato*, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.4, 2008.

SILVEIRA, E. B. Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontrole de doenças. In: MICHEREFF, S.J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE. Cap. 3. 2001. 368 p.

SIQUEIRA, B. C. et al. **Ação dos fertilizantes Bacsol e Orgasol na altura de inserção da espiga e coloração dos grãos na cultura do milho orgânico**. II Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG, Campus Bambuí. Instituto Federal Sul de Minas Gerais, Campus Machado; UFLA. 2009.

SOUZA JÚNIOR, I. T. et al. Expansion of the biocontrol spectrum of foliar diseases in rice with combinations of rhizobacteria. **Revista Ciência Agronômica**. v. 48 n.3 Fortaleza, 2017.

TORRES, L. G. **Caracterização de linhagens endogâmicas de milho tropical para morfologia de raiz e eficiência nutricional em condições contrastantes de nitrogênio**. 2017. 77 f. Dissertação – Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento, Viçosa, MG, 2017.

TOURINO, M. C. C.; REZENDE, P. M.; SALVADOR, N. Espaçamento, densidade e uniformidade de semeadura na produtividade e características agronômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.37, n.8, p. 1071-1077, 2002.

USDA, United States Department of Agriculture, **World Agricultural Production**. Circular Series WAP 3-19 March 2019. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em: 21 mar. 2019.

VASCONCELLOS, C. A.; SANTOS, H. L.; FRANÇA, G. E. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. Circular técnica n.4. 2 ed. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, 1982.

WORDELL FILHO, J. A. et al. **Pragas e doenças do milho: diagnose, danos e estratégias de manejo**. 82 p. Florianópolis: Epagri, 2016. Epagri. Boletim Técnico, 170, 2016.

WORDELL FILHO, J. A.; CHIARADIA, L. A.; BALBINOT JUNIOR, A. A. **Manejo fitossanitário na cultura do milho**. 156 p. Florianópolis: EPAGRI, 2012.

YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. Como melhorar a eficiência da adubação nitrogenada do milho?. **Informações agronômicas**, n.91, 2000.

ZDOR, R.E.; ANDERSON, A.J. Influence of root colonizing bacteria on defense responses of bean. **Plant and Soil** v.140, p.99-107, 1992.

ZUCARELI, C. et al. Associação de fosfatos e inoculação com *Bacillus Subtilis* e seu efeito no crescimento e desempenho produtivo do feijoeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 65, n.2, p. 189-195, 2018.

ZUCARELI, C. et al. Eficiência agronômica da inoculação à base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho. **Revista Agrarian**, v.4, p.152-157, 2011.

ZUCARELI, C. et al., Desempenho agronômico de genótipos de milho de segunda safra na região Norte do Paraná. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, p. 227- 235, 2013.