

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS-
AGRONOMIA

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL
COM POTENCIAL PARA INCREMENTAR A
PRODUTIVIDADE DA CULTURA DO MILHO

Autora: Lorena Lara Ribeiro Moreira
Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie

RIO VERDE - GO
Agosto - 2017

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS-
AGRONOMIA

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL
COM POTENCIAL PARA INCREMENTAR A
PRODUTIVIDADE DA CULTURA DO MILHO

Autora: Lorena Lara Ribeiro Moreira
Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS – AGRONOMIA, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde - Área de concentração: Produção Vegetal Sustentável no Cerrado.

RIO VERDE - GO
Agosto - 2017

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

RM838b Ribeiro Moreira, Lorena Lara
 Bactérias Promotoras do Crescimento Vegetal com
 Potencial para Incrementar a Produtividade da
 Cultura do Milho / Lorena Lara Ribeiro
 Moreira; orientador Edson Luiz Souchie; co-
 orientador Jacson Zuchi. -- Rio Verde, 2017.
 34 p.

 Dissertação (Graduação em Ciências Agrárias -
 Agronomia) -- Instituto Federal Goiano, Câmpus Rio
 Verde, 2017.

 1. nitrogênio. 2. bactérias rizosféricas. 3.
 inoculação. 4. Zea mays L. I. Souchie, Edson Luiz ,
 orient. II. Zuchi, Jacson , co-orient. III. Título.

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS-
AGRONOMIA

BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL
COM POTENCIAL PARA INCREMENTAR A
PRODUTIVIDADE DA CULTURA DO MILHO

Autora: Lorena Lara Ribeiro Moreira
Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias - Agronomia - Área de
concentração: Produção Vegetal Sustentável no Cerrado.

APROVADA em 31 de agosto de 2017.

Prof. Dr. Jacson Zuchi
Avaliador interno

Dr. Moacir Ribeiro Neto
Avaliador externo

Prof. Dr. Edson Luiz Souchie
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre me guia e protege, traz força, foco e determinação nos momentos difíceis, me ajuda a superar os obstáculos e a seguir em frente quando algo parece dar errado.

Ao Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, por abrir as portas e fornecer a infraestrutura para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo apoio financeiro (Chamada Pública MEC/SETEC/CNPq N° 94/2013).

Ao orientador Edson Luiz Souchie, pela orientação, apoio e ensinamentos durante todo o mestrado.

Ao coorientador Jacson Zuchi, pelas orientações e disponibilidade.

Ao meu noivo, que sempre me apoia, encoraja, aconselha e conforta. Sou grata por acreditar em mim e me ensinar a valorizar meu potencial. Se hoje eu me tornei uma pessoa mais forte, focada e determinada, devo isso a ele.

À minha família, em especial, aos meus pais, que sempre estão do meu lado, nas alegrias e tristezas, derrotas e vitórias. Tenho muito orgulho da educação que me deram, a qual me tornou guerreira, capaz de enfrentar os obstáculos e lutar pelos meus sonhos.

Aos colegas e amigos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para o desenvolvimento dessa dissertação.

Aos membros da banca examinadora, pelas contribuições relacionadas à dissertação.

**“Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que
melhor se adapta às mudanças”. Charles Darwin**

BIBLIOGRAFIA DA AUTORA

Lorena Lara Ribeiro Moreira nasceu na cidade de Uberlândia - MG em 26 de fevereiro de 1992. Filha de Marli Alves Ribeiro Maciel, José Geraldo Moreira (pai biológico) e Décio Maciel Babilônia (padrasto), foi criada na cidade de Lagoa Formosa em Minas Gerais, onde cursou o ensino fundamental e médio. Após conclusão, mudou-se para Patos de Minas-MG para cursar Licenciatura em Ciências Biológicas, no Centro Universitário de Patos de Minas. Em seguida, Lorena fez pós-graduação *Lato sensu* em Docência no Ensino Superior, pela Universidade Católica Dom Bosco, em parceria com o Portal Educação. No ano de 2015, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, GO.

ÍNDICE GERAL

	Página
RESUMO	08
ABSTRACT	09
1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Cultura do milho	12
1.2 Fixação biológica do nitrogênio por bactérias diazotróficas	14
1.3 REFERÊNCIAS	16
2 OBJETIVOS	19
2.2 Geral	19
2.2 Específicos	19
EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE DIAZOTRÓFICOS NA CULTURA DO MILHO EM SOLO DE CERRADO	20
RESUMO	20
1. INTRODUÇÃO	21
2. MATERIAL E MÉTODOS	23
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
3.1 Ensaio Segunda Safra / 2015	25
3.2 Ensaio Segunda Safra / 2016	27
4. CONCLUSÕES	28
5. REFERÊNCIAS	29
ANEXO	31

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Características químicas e granulométricas do solo da Área Experimental do IF Goiano - Campus Rio Verde, GO.	31
Tabela 2. Massa seca de raízes e colmos de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2015).	31
Tabela 3. Massa seca de parte aérea e de colmos de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2015).	32
Tabela 4. Massa seca de parte aérea, de raízes, relação massa seca de parte aérea/de raízes, volume e área radicular de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2015).	32
Tabela 5. Massa seca de parte aérea, relação massa seca de parte aérea/raízes e massa seca total de híbrido de milho cultivado em campo com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2016).	33
Tabela 6. Massa seca de parte aérea, de colmos, relação massa seca de parte aérea/raízes e massa seca total de híbrido de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2016).	33
Tabela 7. Massa seca e diâmetro radicular de híbrido de milho cultivado em campo com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2016).	34

Tabela 8. Síntese dos resultados do ensaio com milho, na segunda safra / 2015. Área Experimental do IF Goiano – Campus Rio Verde.	34
Tabela 9. Síntese dos resultados do ensaio com milho, na segunda safra / 2016. Área Experimental do IF Goiano – Campus Rio Verde.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Média de temperatura e precipitação pluviométrica ao longo do ano, no município de Rio Verde, GO.	31

RESUMO

MOREIRA, LORENA LARA RIBEIRO. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, GO, agosto de 2017. **Bactérias promotoras do crescimento vegetal com potencial para incrementar a produtividade da cultura do milho.** Orientador: Dr. Edson Luiz Souchie.

O milho (*Zea mays* L.) é considerado no Brasil uma das culturas mais importantes, pelo seu valor social, cultural e, principalmente, econômico. Entre os nutrientes exigidos pelo milho, o nitrogênio (N) merece destaque, pois favorece o incremento da produtividade e qualidade dos grãos. No entanto, o custo de produção é alto, principalmente pela adubação nitrogenada via fertilizantes industrializados. Com este trabalho, objetivou-se testar bactérias diazotróficas promotoras do crescimento vegetal, para incrementar a produtividade da cultura do milho, visando a reduzir a aplicação de fertilizantes nitrogenados industrializados. O trabalho foi conduzido no campo experimental do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, GO, tendo os inoculantes microbianos sido validados em duas épocas distintas (segunda safra de 2015 e 2016). Utilizou-se o híbrido de milho DKB 390 PRO 2, de alto potencial produtivo, em ensaios sob delineamento em blocos ao acaso, esquema fatorial 4 x 3 (*Azospirillum brasilense* AbV5 e AbV6 - produto comercial, *Lysinibacillus fusiformis* e *Microbacterium oxydans*, um controle não inoculado e três dosagens de adubação nitrogenada: 50, 100 e 200 kg ha⁻¹ de N - ureia), com quatro repetições. Aos 35 dias após a emergência, foram coletadas cinco plantas por parcela e avaliados o volume e diâmetro de raízes, massa seca de parte aérea e de raízes. Na colheita, foram avaliados a massa seca dos colmos, o peso de 1000 grãos e a produtividade. Na segunda safra / 2015, os melhores resultados foram para o inoculante AzoTotal[®] na dosagem 100 kg N ha⁻¹; *L. fusiformis* na dosagem 50 kg N ha⁻¹; e *M. oxydans* na dosagem 200 kg N ha⁻¹. Na segunda safra / 2016, os melhores resultados foram para AzoTotal[®] na dosagem 50 kg N ha⁻¹; *L. fusiformis* na dosagem 100 kg N ha⁻¹; e *M. oxydans* na dosagem de 200 kg N ha⁻¹. O inoculante de *L. fusiformis* se mostrou promissor, justificando pesquisas para sua formulação como inoculante de mercado, uma vez que se equiparou ao inoculante AzoTotal[®].

PALAVRAS-CHAVE: nitrogênio, bactérias rizosféricas, inoculação, *Zea mays* L.

ABSTRACT

MOREIRA, L.L.R. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, August, 2017.
Plant growth promoting rhizobacteria with potential to increase the corn yield.
Adviser: Edson Luiz Souchie.

Corn (*Zea mays* L.) is considered one of the most important crops in Brazil, due to its social, cultural and mainly economic value. Among the nutrients required by corn, nitrogen (N) is the most important, since it favors the increase of grain yield and quality. However, the cost of production is high, mainly due to the nitrogen fertilization via industrialized fertilizers. This work aimed to test plant growth promoting diazotrophic bacteria to increase the corn yield and reduce the application of industrialized nitrogen fertilizers. The work was carried out in the experimental field of the Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, GO, where microbial inoculants were validated in two distinct seasons (second crop of 2015 and 2016). The DKB 390 PRO 2 corn hybrid of high productive potential was used in a randomized block design, a 4 x 3, factorial scheme (*Azospirillum brasilense* AbV5 and AbV6 - commercial product, *Lysinibacillus fusiformis* and *Microbacterium oxydans* and a non-control inoculated and three doses of nitrogen fertilization: 50, 100 and 200 kg ha⁻¹ of N-urea), with four replicates. At 35 days after emergence, five plants per plot were collected and the root volume and diameter, dry shoot/root mass were evaluated. At harvest, the stalk dry matter, the weight of 1000 grains and the yield were evaluated. In the second crop / 2015, the best results were obtained through the AzoTotal[®] inoculant in the dosage 100 kg N ha⁻¹, *L. fusiformis* in the dosage 50 kg N ha⁻¹ and *M. oxydans* in the dosage 200 kg N ha⁻¹. At 50 kg N ha⁻¹ it happened with *L. fusiformis* at the dosage 100 kg N ha⁻¹ and *M. oxydans* at the dosage of 200 kg N ha⁻¹. The inoculant of *L. fusiformis* was promising, justifying research for its formulation as a commercial inoculant, since it was similar to the AzoTotal[®].

KEYWORDS: Nitrogen, rhizospheric bacteria, inoculation, *Zea mays* L.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie pertencente à família Poaceae que há mais de 8.000 anos vem sendo cultivado em vários países como Brasil, China, Índia, Estados Unidos, França, Indonésia, África do Sul, Portugal, entre outros. A cultura do milho é muito conhecida pela sua grande importância econômica, desde o cultivo do grão para atender o consumo da população com a fabricação de óleos, farinhas, amidos, margarina e cereais, até o seu principal destino, as indústrias de rações para animais (BARBIERI et al., 2008). O Brasil é considerado o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador mundial de milho, sendo responsável por grande parte da alimentação mundial, estimada em 9 bilhões de pessoas, em 2050 (MAPA, 2015). Segundo dados da Conab (2017) estima-se que a área total reunindo primeira e segunda safras 2016/2017, deve atingir 17.244,4 mil ha e uma produção de 92,8 milhões de toneladas.

No entanto, a domesticação da espécie, via intensa seleção, a tornou de grande importância econômica mundial, porém muito dependente do homem, havendo vários riscos inerentes ao seu cultivo, como a sensibilidade a variações climáticas, a necessidade do uso de tecnologias e de práticas de manejo, como, por exemplo, a suplementação com nutrientes considerados indispensáveis para a cultura desenvolver-se satisfatoriamente e com alto rendimento, o que torna um grande desafio aos produtores (BARBIERI et al., 2008). Entre os nutrientes, destaca-se o nitrogênio (N), macronutriente fundamental para atingir o pleno potencial produtivo desta cultura, aumentar o teor de proteína do grão e melhorar a digestibilidade do milho forrageiro. Porém, animais e plantas não conseguem utilizar o N₂ como nutriente por causa da tripla ligação existente entre dois átomos do N₂. Quando o N₂ se difunde para o espaço

poroso do solo, é aproveitado por alguns micro-organismos, principalmente bactérias diazotróficas, que rompem a ligação tripla do N_2 , reduzindo-o para a forma inorgânica combinada (NH_3), tornando-se disponível às plantas e a outros organismos (HUNGRIA, 2011).

O N também pode ser transformado em amônia (NH_3) através de processos industriais, como a produção de fertilizantes nitrogenados usados nos sistemas agrícolas. Mas, em termos gerais, tanto ecológicos quanto econômicos, a fixação biológica de nitrogênio (FBN) é mais estratégica que a fixação industrial, pois é um recurso renovável, passível de manipulação, barato, sem impacto ambiental, sendo responsável por 65% do N incorporado aos seres vivos do planeta.

A inoculação de sementes com bactérias diazotróficas faz com que se multipliquem na espermosfera e, em resposta aos exsudados da semente, aderem à superfície radicular e colonizam as raízes em desenvolvimento, podendo, algumas espécies, colonizar tecidos internos da raiz e do caule. Além da FBN, algumas bactérias podem afetar benéficamente o crescimento de uma ou mais espécies vegetais, sendo consideradas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP), pois produzem substâncias promotoras do crescimento vegetal, interferem na nutrição de plantas, são competidores eficientes que deslocam outros organismos e ainda podem agir como controle biológico de fitopatógenos pela produção de sideróforos, ácido cianídrico e/ou antibióticos, enzimas extracelulares, competição por nutrientes e sítios de infecção (MOREIRA et al., 2006).

No Brasil, o custo de produção da cultura do milho é alto, principalmente pela adubação nitrogenada por fertilizantes químicos industrializados. Os fertilizantes são compostos químicos empregados na agricultura para aumentar a quantidade de nutrientes do solo e, conseqüentemente, atingir alta produtividade de grãos. Atualmente, são muito utilizados, apesar de seu uso ser questionado pelos problemas de degradação da qualidade do solo, poluição das fontes de água e da atmosfera e pelo aumento da resistência de pragas que causam.

Pesquisas revelam que, de maneira geral, o uso de fertilizantes nitrogenados industrializados acarreta problemas para o ambiente, entre eles a contaminação de lençóis freáticos, rios e lagos, uma vez que muitos dos fertilizantes levam poluentes orgânicos persistentes como dioxinas e metais pesados em sua composição, que contaminam os animais e plantas aquáticas. Contrariamente, o uso de inoculantes biológicos favorece a biodiversidade do solo, com o surgimento de micro-organismos

que contribuem para o crescimento das plantas e, em longo prazo, melhoram a qualidade do solo. Outro problema real do mercado é referente ao efeito prejudicial aos inoculantes microbianos por defensivos amplamente utilizados no tratamento de sementes de milho.

Desta forma, justificam-se pesquisas visando a aprimorar a compatibilização entre inoculantes e defensivos amplamente utilizados no tratamento de sementes, para que a qualidade e a viabilidade de células bacterianas não sejam perdidas, mesmo após seu armazenamento por longo prazo.

Ademais, esforços são necessários para reduzir o custo com fertilizantes nitrogenados industrializados e incrementar a sustentabilidade da cadeia produtiva da cultura do milho, especificamente, pela redução do uso de fertilizantes nitrogenados, compensado pela inoculação de bactérias diazotróficas, selecionadas para as condições de solo de Cerrado.

1.1 A cultura do milho

O milho é taxonomicamente identificado como *Zea mays* L., espécie pertencente à família Poaceae, ocorrendo, há mais de 8.000 anos, relatos de espécies domesticadas cultivadas em várias partes do mundo. Sua complexa e extensa história evolutiva, aliada à grande variabilidade representada por vários genótipos, permite o seu cultivo em climas tropicais, subtropicais e temperados, mas dificulta a construção de um sistema taxonômico adequado. Mas, mesmo que existam incertezas sobre sua origem, relata-se que o milho é um cereal americano vindo do México. É considerada uma das culturas mais importantes do mundo, pelo seu valor social, cultural e, principalmente, econômico, além de ser uma das principais fontes da alimentação humana e animal. Ocupa a terceira posição entre as espécies mais estudadas, sendo alvo de intensas pesquisas científicas que contribuem para o aperfeiçoamento de técnicas empregadas em outras culturas economicamente importantes (BARBIERI et al., 2008).

O milho assume importante papel em âmbito mundial pelas suas diversas finalidades, como o cultivo do grão para atender grande parte da alimentação humana com a fabricação de óleos, farinhas, amido, margarina, cereais matinais, o consumo do próprio grão, entre outros, e também como fonte de matéria-prima para fabricação de etanol. Também tem sido utilizado intensamente na ração de bovinos, suínos e aves.

Portanto, a utilização de práticas agrícolas que incrementem a produtividade de grãos, sem comprometer a preservação ambiental, faz-se necessária durante o ciclo da cultura (VILELA et al., 2012). No Brasil, há duas épocas distintas de plantio, sendo a primeira safra, entre os meses de outubro a fevereiro, e a segunda, entre fevereiro e março, com a colheita entre junho e julho (GOES et al., 2012).

Segundo a Conab (2017), no período 2016/17, o total da área plantada com milho primeira safra atingiu 5.521,8 mil ha. A produção atingiu o montante de 30.313,3 mil toneladas, representando incremento de 17,7% em relação à safra anterior. A posição consolidada da área de milho, reunindo a primeira e segunda safra, no ciclo 2016/17, atingiu cerca de 17.346,5 mil ha, representando um incremento de 8,9% se comparada à safra anterior. As principais culturas produzidas no país, milho e soja, tiveram ganho na produção de 19,4 e 41%, respectivamente, o que corresponde a quase 90% do que é produzido.

Segundo Farinelli et al. (2014), nos últimos anos, ocorreram importantes mudanças tanto no manejo quanto nos tratamentos culturais, resultando em aumentos expressivos na produtividade de grãos. Entre essas mudanças, destacaram-se a adoção de cultivares com alto potencial produtivo, a nutrição mineral adequada e a adoção da biotecnologia. Rocha et al. (2014) destacam que, entre as práticas de cultivo do milho, a adubação nitrogenada é fundamental, uma vez que a cultura necessita de altas concentrações deste nutriente, exercendo papel fundamental na composição do rendimento final da cultura.

O N é um elemento mineral que as plantas exigem em alta quantidade por ser constituinte de vários componentes das células vegetais, como proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos, uma vez que sua deficiência pode inibir o desenvolvimento vegetal. Apesar de presente em muitas formas na biosfera e em grande quantidade na atmosfera, o N não está disponível para a maioria dos organismos vivos. A assimilação do N pelas plantas ocorre em sua forma inorgânica, seja como amônia (NH_3), amônio (NH_4), nitrito (NO_2) ou nitrato (NO_3), mas para que ocorra essa absorção do N_2 atmosférico pelas plantas, sua tripla ligação covalente entre os dois átomos de N precisa ser quebrada, reações estas conhecidas como de fixação do N, que podem ser feitas por processos industriais na produção de fertilizantes industrializados, ou naturais, pela ação de bactérias diazotróficas (TAIZ et al., 2013).

Alves et al. (2014) afirmam que o N incrementa o número e o comprimento de espigas, peso de 1.000 grãos, e favorece o crescimento da planta de milho. No entanto,

a eficiência para utilização de N é em torno de apenas 50%, em decorrência das perdas por lixiviação, volatilização e desnitrificação, intensificando as emissões de gases como os de efeito estufa e a poluição dos rios. Alternativas que permitem redução de taxas de fertilizantes industrializados, aumentando a eficiência do uso de N pela planta, são a base da agricultura moderna. Rocha et al. (2014) alegam que a adubação nitrogenada é muito onerosa ao produtor de milho, com valor médio de US\$ 1,42 kg⁻¹ de N, podendo representar 15% do custo de produção.

No cenário atual, após décadas de pesquisas, o uso de bactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR) pode maximizar a eficiência do uso de insumos e minimizar a elevada dependência por fertilizantes nitrogenados industrializados. Algumas cepas já têm sido utilizadas em produtos comerciais para o milho, como, por exemplo, estirpes de *Azospirillum brasilense* Abv5 e Abv6, vendidas no Brasil e em outros países da América Latina, a estirpe Az39, comercializada na Argentina, e a CRT1 estirpe de *A. lipoferum*, em produtos na Europa, entre outros (ALVES et al., 2014).

Assim, em função da crescente busca para aumentar a sustentabilidade nos agrossistemas, a produtividade de grãos e ainda melhorar a rentabilidade, estudos de novas alternativas de adubação nitrogenada vêm sendo desenvolvidos, focados no potencial de contribuição de bactérias para o fornecimento de N.

1.2. Fixação biológica do nitrogênio por bactérias diazotróficas

Os micro-organismos procariotos presentes no solo desempenham papéis estratégicos na ciclagem de nutrientes, entre eles destacam-se os diazotróficos, que promovem a FBN nos vegetais, como as arqueobactérias, cianobactérias, bactérias gram-positivas e gram-negativas, com grande diversidade filogenética, morfológica, fisiológica e genética, o que possibilita sua sobrevivência nos mais diferentes habitats terrestres. Elas podem ser de vida livre ou estar associadas a espécies vegetais, estabelecendo simbiose com leguminosas (MOREIRA et al., 2010).

Alves et al. (2014) citam espécies dos gêneros *Herbaspirillum* e *Azospirillum*, classificadas como PGPR, que maximizam a nutrição nitrogenada das plantas por meio da FBN, solubilização de fosfatos e produção de sideróforos. Além disso, podem melhorar o desenvolvimento radicular pela produção de classes de fitormônios, que

influenciam o crescimento da raiz primária, o aumento do número e o comprimento de raízes laterais e o alongamento de pelos radiculares. Na pesquisa desenvolvida por esses autores, foram testadas as espécies *Herbaspirillum seropedicae*, *H. rubrisubalbicans* e *H. frisingense*, quanto à capacidade de promover o crescimento quando inoculadas em genótipos de milho. Os resultados apontaram que *Herbaspirillum seropedicae* proporcionou desempenho superior em ambos os genótipos de milho avaliados, promoveu alta produção de biomassa vegetal em ensaios de estufa e, em campo, chegou a fixar 37% de N.

A interação entre os diazotróficos e o milho tem sido demonstrada em diversas pesquisas, apesar de sua inoculação ainda não ser uma prática agrícola comum dos agricultores. Novakowski et al. (2011) destacam que, em várias pesquisas de diferentes países, a inoculação de *Azospirillum* mostrou resultados positivos, como aumento de massa seca, maior produção de grãos e acúmulo de N nas plantas, particularmente em genótipos não melhorados em presença de baixa disponibilidade de N.

Segundo Araújo et al. (2014), as bactérias do gênero *Azospirillum* associam-se à rizosfera do milho e podem contribuir com a nutrição nitrogenada da cultura, além de promover o crescimento vegetal pela produção de fitormônios e sideróforos ou pelo aumento da disponibilidade de P. Os autores avaliaram o efeito da inoculação com *Azospirillum brasilense* associado à adubação nitrogenada, sobre a produtividade de milho verde. Os resultados apontaram que a combinação da inoculação com *A. brasilense* e N aumentou em mais de 30% o rendimento de espigas comerciais, com redução de 15% na adubação nitrogenada.

O crescimento vegetal promovido pelos diazotróficos ocorre pela FBN, mas também pode haver produção de substâncias, como o ácido indol acético, que auxiliam no crescimento radicular. As bactérias diazotróficas associativas são denominadas rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (RPCV), as quais assumem papel importante na interação com a rizosfera e na ciclagem dos nutrientes. Porém, não têm a mesma eficiência de simbiose que ocorre entre rizóbios e leguminosas no solo, pois mesmo as associativas sendo endofíticas (colonizadoras do interior das plantas), não têm tamanha organização e complexidade. As simbioses de bactérias nodulíferas, observadas nas raízes das leguminosas, resultam de um processo evolutivo que minimiza perdas de N₂ fixado por interferência de fatores químicos, físicos e biológicos,

que interagem na complexidade, heterogeneidade e dinâmica do sistema edáfico (MOREIRA et al., 2010).

Moreira et al. (2010) mostram em suas pesquisas que a contribuição da FBN para gramíneas está em torno de 25 a 50 kg N ha ano⁻¹, equivalendo a cerca de 17% das demandas das culturas. Portanto, considerando a importância das culturas do milho, trigo, arroz, entre outros, consideradas fontes principais de carboidrato na dieta humana, com alto potencial fotossintético, esta taxa de FBN, mesmo sendo baixa, representa uma expressiva economia nos custos de produção, o que justifica estudos visando a maximizar seu potencial. Porém a realidade dominante nos atuais sistemas agrícolas é de grande dependência por insumos industrializados, com destaque para os fertilizantes nitrogenados, ao invés de ampliar a exploração do potencial das bactérias diazotróficas para a FBN e outros mecanismos de promoção do crescimento de plantas.

Ao analisar vários artigos relacionados com a FBN em milho, observa-se que a maioria dos estudos são feitos com bactérias do gênero *Azospirillum*, no entanto, torna-se estratégico prospectar outros gêneros bacterianos diazotróficos, visando a incrementar a nutrição, o crescimento e a produtividade desta cultura.

1.3. Referências bibliográficas

ALVES, G. C.; VIDEIRA, S. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. **Plant and Soil**, v. 387, p. 307-321, 2014.

ARAÚJO, R. M.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B. Response of green corn to *Azospirillum brasilense* inoculation and N levels. **Ciência Rural**, v.44, p.1556-1560, 2014.

BARBIERI, R. L; STUMPF, E. R. T. Origem e evolução de plantas cultivadas. **EMBRAPA. Empresa Informação Tecnológica**. 1ª ed. p. 577-594. Brasília, DF. 2008.

BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G. A cultura do milho. **Évora**. Escola de Ciências e Tecnologia. Departamento de Fitotecnia. 2014. Acesso em: 20 abril de 2016. Disponível em: <file:///C:/Users/Win%207%20Ultimate/Downloads/Sebenta-milho.pdf>.

CONAB – Campanha Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. v.4, p.1-161. Brasília. Junho, 2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253>>.

GOES, R. J.; RODRIGUES, R. A. F.; ORIVALDO, A. R. F.; VILELA, R. G. Nitrogênio em cobertura para o milho (*Zea mays*) em sistema plantio direto na safrinha. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.11, p.169-177, 2012.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Embrapa Soja. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Londrina, PR. Julho, 2011.

Ministério da Agricultura. 2015. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>>. Acesso em: abril de 2016.

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

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**, p. 407-447. Editora UFLA, 2ª edição, 2006.

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

PIRES, A. M. M.; MATTIAZZO, M. E. Avaliação da Viabilidade do Uso de Resíduos na Agricultura. **Embrapa Meio Ambiente**. Circular Técnica, 19. Jaguariúna, São Paulo. Novembro, 2008.

ROCHA, K. F.; CASSOL, L. C.; PIVA, J. T.; ARRUDA, J. H.; MINATO, E. A.; FAVERSANI, J. C. Épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho num Latossolo Vermelho muito argiloso sob plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.13, p.273-284, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ª edição. Editora Artmed, p. 719, 2013.

VILELA, R. G.; ORIVALDO, A. R. F.; GITTI, D. C.; KAPPES, C.; GOES, R. J.; BEM, E. A. D.; PORTUGAL, J. R. Manejos do milheto e dosagens de nitrogênio na cultura do milho em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.11, p. 234-242, 2012.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Testar estirpes de bactérias diazotróficas para incrementar a produtividade da cultura do milho e reduzir a aplicação de fertilizantes nitrogenados.

2.2 Específicos

- Validar isolados de diazotróficos como promotores do crescimento vegetal, para incrementar a produtividade da cultura do milho no Cerrado; e
- Detectar um tratamento de inoculação que incremente a produtividade de grãos de milho e reduza a dosagem de fertilizante nitrogenado.

(Normas de acordo com a revista Semina - Ciências Agrárias)

EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DE DIAZOTRÓFICOS NA CULTURA DO MILHO EM SOLO DE CERRADO

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é considerado no Brasil uma das culturas mais importantes, pelo seu valor social, cultural e, principalmente, econômico. No entanto, o custo de produção é alto, principalmente pela adubação nitrogenada por fertilizantes industrializados, necessários para garantir boa produtividade e qualidade dos grãos. Com este trabalho, objetivou-se testar bactérias diazotróficas com potencial biotecnológico para incrementar a produtividade do milho e reduzir a demanda por fertilizantes nitrogenados industrializados. O trabalho foi conduzido no campo experimental do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, GO, em que inoculantes foram validados quanto à capacidade de promover o crescimento do híbrido de milho DKB 390 PRO 2, na segunda safra de 2015 e de 2016. Ambos os ensaios foram instalados em delineamento em blocos ao acaso, esquema fatorial 4 x 3 (quatro bactérias diazotróficas: *Azospirillum brasilense* AbV5 e AbV6 - produto comercial, *Lysinibacillus fusiformis* e *Microbacterium oxydans*, ambas da rizosfera de milho, e um controle não inoculado, e três dosagens de adubação nitrogenada: 50, 100 e 200 kg ha⁻¹ de N - ureia), com quatro repetições. Aos 35 dias após a emergência (DAE), foram coletadas cinco plantas por parcela para avaliar o volume e o diâmetro de raízes, massa seca de parte aérea e de raízes. Na colheita, foram avaliados a massa seca de colmos, peso de 1000 grãos e a produtividade. Na segunda safra / 2015, o AzoTotal[®] proporcionou melhores resultados quando combinado à dosagem 100 kg N ha⁻¹; o isolado *L. fusiformis* na dosagem de 50 kg N ha⁻¹; e o *M. oxydans* com 100 kg N ha⁻¹. Na segunda safra / 2016, o controle

aliado à dose de 100 kg N ha⁻¹ foi a recomendação mais adequada. Para AzoTotal[®], a recomendação foi de 50 kg N ha⁻¹; para o *L. fusiformis*, foi de 100 kg N ha⁻¹; e para o *M. oxydans*, foi de 200 kg N ha⁻¹. O isolado *L. fusiformis* se mostrou promissor, justificando pesquisas para sua formulação como inoculante de mercado.

Palavras-chave: bactérias promotoras do crescimento vegetal, fixação biológica de N, inoculação, *Zea mays* L.

1. INTRODUÇÃO

O milho é um dos principais cereais produzidos no Brasil, com estimativa de área total plantada de, aproximadamente, 10,5 milhões de hectares, para milho segunda safra nos anos agrícolas 2015/2016, com produção total (primeira e segunda safra) de 66,9 milhões de toneladas (Conab, 2016). No entanto, o custo de produção é alto, principalmente em razão da adubação com fertilizantes nitrogenados industrializados, necessários para garantir alta produtividade e qualidade dos grãos. Com isso, têm sido estudadas alternativas que otimizem seu uso na cultura, assim como a simbiose com bactérias promotoras do crescimento de plantas que promovam a FBN, por meio de inoculantes contendo estirpes com essas características.

Várias pesquisas vêm sendo conduzidas com o uso de bactérias do gênero *Herbaspirillum*, como *H. seropedicae*, *H. rubrisubalbicans* e *H. frisingense* e do gênero *Azospirillum*, como *A. brasilense* e *A. lipoferum*. A utilização dessas bactérias tem se destacado por beneficiar plantas através de mecanismos como FBN, produção de fitormônios e solubilização de fosfatos (Novakowski et al., 2016). Dartora et al. (2016) comprovaram grande potencial de um isolado de *Azospirillum* sp., combinado com 30 kg ha⁻¹ N, que promoveu rendimentos na cultura do milho equivalentes à adubação com 160 kg ha⁻¹ de N.

Dartora et al. (2016), com a inoculação de *A. brasilense* e *H. seropedicae*, obtiveram incremento de 12% no teor de P em folhas de milho. Novakowski et al. (2016) detectaram que *A. brasilense* proporciona produtividade de milho superior ao controle, mesmo com o aumento da dosagem de N aplicada na pastagem. Baldotto et al. (2012) afirmam que o crescimento do milho foi influenciado pela adubação, mas foi reforçado pela combinação com *H. seropedicae*, que resultou em aumentos

significativos na massa seca da parte aérea (7%) e área foliar (9%), comparado às plantas não inoculadas, além de incrementos no acúmulo de N (11%) e P (30%). Levantamentos de vários trabalhos desenvolvidos em diversos países mostram que a inoculação com o gênero *Azospirillum* proporciona, na maioria das vezes, aumento de produtividade, massa seca e teor de N (Kappes et al., 2013).

O *Azospirillum brasilense* é classificado como bactéria gram-negativa, aeróbica ou microaerofílica, pertence à classe das *Alfaproteobacterias*, família *Rhodospirillaceae* (Quadros et al., 2014) e, atualmente, encontram-se registradas 332 variações no banco de genes da plataforma “National Center for Biotechnology Information” (NCBI, acessado em outubro de 2016). Essa espécie tem sido testada em muitos trabalhos, sendo caracterizada pelo estímulo ao crescimento de plantas, por meio de mecanismos como a melhoria da nutrição nitrogenada, a síntese de fitormônios, mitigação de estresse e controle biológico da microbiota patogênica, entre outros (Quadros et al., 2014). Quanto à *Lysinibacillus fusiformis*, de acordo com o NCBI, existem quatro variações taxonômicas, sendo classificada como gram-positiva, pertence ao filo *Firmicutes* e tem atividade antifúngica contra *Sclerotinia sclerotiorum*. Abiala et al. (2015) detectaram isolados de bactérias rizosféricas do gênero *Lysinibacillus* com potencial de controle de doenças na cultura do milho, causadas pelo fungo *Fusarium verticillioides*. Singh et al. (2013) atestaram que estirpes de *L. fusiformis* B-CM18, isoladas da rizosfera de *Cicer arietinum* (grão-de-bico), mostraram atividade antifúngica contra vários fungos fitopatogênicos. Similarmente, *Microbacterium oxydans* é gram-positiva, pertence ao filo *Actinobacteria*, apresenta traços funcionais indicativos de atividade antifúngica contra *S. sclerotiorum* e capacidade de biossíntese de AIA. Também, Egamberdieva (2008) isolou uma estirpe de *Microbacterium* sp. da filosfera de *Pisum sativum* cv. Grapis., com potencial de produção de AIA e antagonismo ao fungo *Fusarium culmorum*. Costa et al. (2002) relataram isolados do gênero *Microbacterium* colonizando endofiticamente folhas de plantas de feijoeiro (*P. vulgaris*).

Após analisar vários artigos relacionados à FBN em milho, grande parte com o gênero *Azospirillum*, observa-se que há muito a se explorar e a testar quanto à diversidade destas bactérias e seu potencial de aplicação de outras espécies descritas, assim como *Lysinibacillus fusiformis* e *Microbacterium oxydans*, que foram selecionadas para as condições de solo de Cerrado e aqui testadas como possíveis promotoras do crescimento para esta cultura.

Com este trabalho, objetivou-se testar bactérias promotoras do crescimento vegetal para incrementar a produtividade da cultura do milho, visando a reduzir a aplicação de fertilizantes nitrogenados industrializados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização da área

Um mesmo experimento foi conduzido em condições de campo, sob plantio direto, na área experimental do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, na segunda safra dos anos agrícolas de 2015 e 2016. O local está situado a 17° 47' e 53'' de latitude Norte e 51° 55' 53'' de latitude Sul, com altitude média de 737m.

De acordo com Köppen e Geiger, o clima é do tipo Aw, temperatura média de 23,3 °C e pluviosidade média anual de 1.663 mm. As temperaturas médias variam 3.6 °C durante o ano. O mês mais quente do ano é fevereiro, com uma temperatura média de 24.5 °C. Em junho, a temperatura é a mais baixa do ano, com uma média de 20.9 °C. O mês mais seco é junho, com 13 mm, e dezembro, o mês com maior média (296 mm) (Figura 1).

O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho distrófico com textura média (Tabela 1).

2.2. Instalação dos ensaios

O experimento foi instalado em delineamento em blocos ao acaso, esquema fatorial 4 x 3 (quatro tratamentos de inoculantes microbianos e três dosagens de adubação nitrogenada), com quatro repetições. Utilizou-se o híbrido de milho DKB 390 VT PRO 2. As três dosagens de adubação nitrogenada foram: 50, 100 e 200 kg ha¹ de N. Os inoculantes foram: *Azospirillum brasilense* (AbV5 e AbV6 - produto comercial), *Lysinibacillus fusiformis* e *Microbacterium oxydans*, espécies bacterianas isoladas da rizosfera de milho. As parcelas foram constituídas por áreas de 3,0 x 8,0 m, distanciadas 1,0 m uma da outra. A área total da parcela foi de 24 m², totalizando 1.152 m², e a área útil correspondeu às quatro linhas centrais, desprezando-se um metro em cada extremidade. O espaçamento entre linhas adotado foi o de 0,5 m, com distribuição de três sementes por metro linear.

As dosagens de adubação foram recomendadas de acordo com os resultados da análise de solo, sendo a de plantio apenas com superfosfato simples (500g por parcela

00-18-00) e a de cobertura foi aplicada a lanço com cloreto de potássio (250g por parcela 00-00-60). A adubação nitrogenada com ureia (42-00-00) foi dividida em duas fases, 30% em V2 e 70% em V5, sendo aplicadas as dosagens 200, 400 e 800g nos tratamentos com 50, 100 e 200 kg N ha⁻¹, respectivamente.

As sementes foram inoculadas no momento do plantio, colocadas em sacos e homogeneizadas, com 2 mL por kg⁻¹ para os tratamentos com *Lysinibacillus fusiformis* e *Microbacterium oxydans*, inoculantes preparados no Laboratório de Microbiologia Agrícola do IF Goiano – Campus Rio Verde, GO, a partir de uma solução pura de bactérias na concentração de 10⁹ UFC mL⁻¹. Tais cepas foram isoladas da rizosfera do milho cultivado por 45 DAE, em vasos com solo da área experimental do Campus. Para a inoculação das estirpes AbV5 e AbV6, seguiu-se a recomendação do rótulo do produto comercial AzoTotal[®], desenvolvido pela Embrapa e comercializado pela empresa Total Biotecnologia. A semeadura foi feita utilizando uma bicicleta semeadora em 27 de fevereiro de 2015 e 22 de março de 2016.

2.3. *Tratos culturais*

Durante o experimento, houve necessidade de aplicação de herbicida sistêmico não seletivo, no estágio V2, e do inseticida Flubenciamida, do grupo químico diamida do ácido ftálico, e inseticida Imidacloprido, do grupo Neonicotinoide, no estágio R1.

No ano de 2015, o índice pluviométrico no primeiro semestre variou de aproximadamente 250 mm, em fevereiro, a 140 mm, em maio, ficando acima da média esperada. Contrariamente, no ano de 2016, houve instabilidade do clima. Especificamente, em fevereiro, a precipitação foi de aproximadamente 200 mm, chegando a 320 mm em março. No entanto, essa precipitação caiu drasticamente nos meses seguintes, chegando a níveis abaixo de 10 mm em abril e maio (INMET, 2016). Sendo assim, foram instalados cinco aspersores de 10 cm de diâmetro, com tensões próximas a 35 KPa para irrigação na área experimental. A vazão foi calculada em 540 L/h, com lâmina de 12 mm.

2.4. *Análises aos 35 DAE*

Aos 35 DAE, amostras de parte aérea de raízes foram coletadas de cinco plantas por parcela e, utilizando uma câmera digital, foram determinados o volume, área superficial e o diâmetro das raízes através das imagens analisadas no software

Safira (2010). Posteriormente, as raízes e a parte aérea (folhas e caule) foram colocadas em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C, por 72 h, para determinação da massa seca. Em seguida, a parte aérea foi colocada em moinho tipo Willey, passada em peneira de malha de 20 meshes e acondicionada em sacos de papel, para determinação dos teores de N.

2.5. Análises pós-colheita

A colheita foi feita manualmente em 14 de junho de 2015 e 20 de agosto de 2016. Para isso, foram coletadas 30 espigas por parcela, na sequência, trilhadas e pesadas, para os devidos cálculos de produtividade. Também foram analisados o peso de 1000 grãos e a massa de colmos (cinco plantas/parcela), sendo os colmos padronizados em 15 cm do segundo entrenó, a partir da raiz. Ambos foram colocados em estufa de circulação forçada de ar, a 65 °C, por 72 h, para determinação da massa seca dos colmos e, em seguida, colmos e grãos foram moídos (moinho Willey - peneira de 20 meshes) e acondicionados em sacos de papel para determinação dos teores de N e P. Em todas as avaliações, as coletas foram feitas nas três linhas centrais de cada parcela.

O teor de água dos grãos colhidos foi aferido com base no teste em estufa, preconizado pelas Regras para Análise de Sementes (MAPA, 2009) para o cálculo de produtividade em kg ha^{-1} , a 13% de umidade.

2.6. Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey (5%), utilizando o programa estatístico SISVAR.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ensaio Segunda Safra / 2015

Para massa seca de colmos, não foi detectada diferença na interação (inoculantes + dosagens), mas somente para os fatores isolados. Especificamente, maior

média foi detectada com AzoTotal[®], *M. oxydans* e o controle, Tabela 2, na dosagem de 100 e 200 kg N ha⁻¹ (Tabela 3).

Para o peso de 1000 grãos e produtividade de grãos, não se observou diferença entre os tratamentos, possivelmente em função da especificidade planta x bactéria, além das condições de cultivo, que afetam o desempenho da cultura inoculada com diazotróficos (Tabela 4). Novakowski et al. (2011) detectaram incremento de produtividade de grãos de milho com a inoculação de *A. brasilense*, quando comparado ao controle não inoculado, mesmo com aumento da quantidade de N aplicado.

De acordo com os resultados da interação, AzoTotal[®] e *L. fusiformis* na dosagem de 200 kg N ha⁻¹ proporcionaram maiores resultados de massa seca de parte aérea, mas não se diferenciaram do controle (Tabela 5).

Quadros et al. (2014) avaliaram *Azospirillum* sp. em milho e observaram aumento no teor relativo de clorofila e de massa seca da parte aérea. Igualmente, Araújo et al. (2013) testaram *H. seropedicae* (ZAE 94) em diferentes genótipos de milho e observaram incrementos na massa seca de parte aérea nos híbridos simples BRS 1030, DKB 390 e DKB 455. Por outro lado, a inoculação foi prejudicial ao crescimento de outros híbridos, mostrando respostas contraditórias da inoculação com diazotróficos endofíticos em gramíneas.

Avaliando a massa seca de raízes, os melhores resultados foram com a inoculação de *L. fusiformis* na dosagem 50 kg N ha⁻¹, enquanto *M. oxydans* e AzoTotal[®] não se diferenciaram do controle na dosagem de 200 kg N ha⁻¹ (Tabela 5).

A relação massa seca de parte aérea e raízes foi maior com os tratamentos AzoTotal[®], *M. oxydans* e o controle na dosagem de 50 kg N ha⁻¹ e *L. fusiformis*, *M. oxydans* e o controle na dosagem de 200 kg N ha⁻¹ (Tabela 5). Baldotto et al. (2012), inoculando *H. seropedicae* em milho, apontaram que a relação raiz/parte aérea diminuiu com a aplicação de doses crescentes de NPK (25, 50, 75, 100 e 200% da recomendação).

Quanto ao volume radicular, os melhores resultados foram com a inoculação de *L. fusiformis*, *M. oxydans* e o controle na dosagem de 50 kg N ha⁻¹ e *M. oxydans* na dosagem de 200 kg N ha⁻¹ (Tabela 5). Para a área do sistema radicular, os melhores resultados foram com AzoTotal[®], *L. fusiformis* e *M. oxydans* na dosagem de 50 kg N ha⁻¹ e AzoTotal[®] e *L. fusiformis* na dosagem de 100 kg N ha⁻¹ (Tabela 5).

Tabela 5. Massa seca de parte aérea, de raízes, relação massa seca de parte aérea/de raízes, volume e área radicular de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2015).

Inoculantes	Massa seca da parte aérea			Massa seca das raízes			Relação massa seca da parte aérea/raízes			Volume radicular			Área radicular		
	-----Dosagens de nitrogênio (kg ha ⁻¹)-----														
	50	100	200	50	100	200	50	100	200	50	100	200	50	100	200
	-----mg planta ⁻¹ -----									-----cm ³ planta ⁻¹ -----			-----cm ² planta ⁻¹ -----		
Controle	27,1 Aa	28,0Aa	23,8Aab	2,6Ba	3,3Aa	4,0ABa	10,8Aa	9,0Aa	7,4ABa	2413,4ABa	4526,8Aa	1412,1Ba	1654,1Ba	1725,6ABa	1224,4Aa
AzoTotal®	26,6Aa	23,3Aa	25,6Aa	3,3Ba	3,3Aa	5,9Aa	8,9ABa	7,3Aa	4,7Ba	1797,8Ba	3554,6Aa	3799,1Ba	3450,9ABa	5127,4Aa	3311,5Aa
<i>L. fusiformis</i>	32,7Aa	21,6Ab	27,1Aab	7,6Aa	3,3Ab	2,5Bb	4,3Bb	6,6Aab	11,3Aa	9149,2Aa	2461,9Ab	4053,0Bab	5802,3Aa	1834,5ABb	4153,7Aab
<i>M. oxydans</i>	27,2Aa	24,6Aa	16,7Bb	4,0Ba	4,1Aa	2,8ABa	6,9ABa	6,0Aa	7,1ABa	4282,5ABb	1286,9Ab	12245,3Aa	3139,5ABab	1097,3Bb	4210,8Aa
CV (%)	13,1			37,3			35,8			72,6			47,8		

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Tabela 6. Massa seca e diâmetro radicular de híbrido de milho cultivado em campo com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2016).

Inoculantes	Massa seca da parte aérea			Massa seca do colmo			Relação da massa seca da parte aérea/raízes			Massa seca total			Diâmetro das raízes		
	-----Dosagens de nitrogênio (kg ha ⁻¹)-----														
	50	100	200	50	100	200	50	100	200	50	100	200	50	100	200
	-----mg planta ⁻¹ -----												-----cm ² planta ⁻¹ -----		
Controle	32,7Ba	37,5Aa	33,9Ba	24,8ABab	22,1Ab	27,9Aa	2,7BCa	3,1Aa	2,9Ba	69,4Ba	71,7Aa	73,7Ba	0,8Ba	1,0Aa	0,9Aa
AzoTotal®	50,0Aa	39,3Ab	46,7Aab	26,6Aa	23,6Aab	21,4Bb	3,7Aa	2,9Ab	3,7Aa	89,9Aa	77,3Ab	80,5ABab	2,1Aa	1,1Ab	0,9Ab
<i>L. fusiformis</i>	39,9Ba	36,0Aa	44,1Aa	25,9ABa	23,7Aa	26,5Aa	3,3ABa	2,4Ab	3,4ABa	78,1ABa	74,6Aa	83,4ABa	0,8Ba	1,0Aa	1,3Aa
<i>M. oxydans</i>	30,6Bb	35,9Ab	46,5Aa	21,7Bb	23,4Ab	29,7Aa	2,4Cb	2,5Ab	3,5ABa	64,1Bb	73,6Ab	89,5Aa	0,8Ba	0,8Aa	0,9Aa
CV (%)	10,6			8,0			10,0			7,5			38,03		

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

3.2 Ensaio Segunda Safra / 2016

Os melhores resultados observados para massa seca de parte aérea foram para AzoTotal[®] na dosagem de 50 kg N ha⁻¹ e AzoTotal[®], *L. fusiformis* e *M. oxydans* combinados com 200 kg N ha⁻¹ (Tabela 6). Santos et al. (2014) avaliaram milho em casa de vegetação, no Sudoeste da Bahia, inoculado com a estirpe ZAE94 de *H. seropedicae*, e observaram aumentos de 14,3% na produção deste parâmetro e 44,3% do N total, quando fertilizado com 60 kg ha⁻¹ de N.

Para massa seca de colmos, os melhores resultados foram para AzoTotal[®], *L. fusiformis* e o controle na dosagem de 50 kg N ha⁻¹ e *L. fusiformis*, para *M. oxydans* e o controle na dosagem de 200 kg N ha⁻¹ (Tabela 6).

Na relação massa seca de parte aérea/massa seca de raízes, AzoTotal[®] e *L. fusiformis* proporcionaram maiores médias na dosagem de 50 kg N ha⁻¹ e AzoTotal[®], *L. fusiformis* e *M. oxydans*, na dosagem de 200 kg N ha⁻¹ (Tabela 6).

Quanto à massa seca total, AzoTotal[®] e *L. fusiformis* proporcionaram as maiores médias na dosagem de 50 kg N ha⁻¹, enquanto AzoTotal[®], *L. fusiformis* e *M. oxydans* proporcionaram as maiores médias com 200 kg N ha⁻¹ (Tabela 6).

Baldotto et al. (2012) avaliaram *H. seropedicae* combinada a dosagens de 0, 25, 50, 75, 100 e 200% de NPK no milho e detectaram influência da adubação, aliada à inoculação da bactéria diazotrófica, o que resultou em aumentos na massa seca de parte aérea (7%) e área foliar (9%), em comparação com as plantas não inoculadas. Quanto ao diâmetro do sistema radicular, apenas AzoTotal[®] foi o melhor na dosagem de 50 kg N ha⁻¹ (Tabela 6).

Canellas et al. (2013) observaram que nas plantas de milho nos estádios iniciais (7 e 45 dias de idade), em casa de vegetação, o tratamento com *Herbaspirillum seropedicae* ativou o metabolismo delas, incluindo o aumento da atividade H⁺-ATPase da membrana plasmática, alteração do metabolismo do açúcar, N e maior fotossíntese líquida. O número de células bacterianas viáveis foi maior nos tecidos radiculares quando a inoculação ocorreu na presença de substâncias húmicas solúveis. Ademais, a aplicação foliar de bactérias diazotróficas endofíticas e substâncias húmicas incrementou a produção de grãos de milho em condições de campo.

Quanto aos parâmetros peso de 1000 grãos e produtividade, não houve diferença entre os resultados. Alves et al. (2014) mostraram que *H. seropedicae* ZAE94 foi a melhor cepa sob condições controladas, e sua aplicação, como inoculante de campo, aumentou o rendimento de milho em até 34%, dependendo do genótipo da planta. De acordo com esses autores, a diferença de resposta ao N e à inoculação depende do genótipo vegetal selecionado e do inoculante bacteriano.

Em suma, os resultados mostraram que, para AzoTotal[®] e *L. fusiformis*, a recomendação seria combiná-los com 100 kg N ha⁻¹ e *M. oxydans* com 200 kg N ha⁻¹. Ao analisar os resultados em geral, nota-se que o isolado *L. fusiformis* se mostrou promissor, justificando pesquisas para sua formulação como inoculante, uma vez que se equiparou ao inoculante comercial AzoTotal[®].

4. CONCLUSÕES

Na segunda safra / 2015, cada inoculante possibilitou resultados positivos em determinadas dosagens, sendo que AzoTotal[®] combinado com 100 kg N ha⁻¹ proporcionou melhores resultados na maioria dos parâmetros avaliados. Para o isolado *L. fusiformis*, a melhor combinação foi com 50 kg N ha⁻¹, avaliando-se massa seca de parte aérea, de raízes, volume radicular e área radicular. Para *M. oxydans*, foi a dosagem de 100 kg N ha⁻¹, avaliando-se a massa seca de parte aérea, de raízes, massa seca de parte aérea/massa seca de raízes e volume radicular.

Na segunda safra / 2016, para AzoTotal[®], a melhor recomendação foi de 50 ou 100 kg N ha⁻¹ para produção de massa seca de parte aérea, massa seca de parte aérea/massa seca de raízes, massa seca de colmos, total e diâmetro de raízes. Para *L. fusiformis*, foi a combinação com 100 kg N ha⁻¹ para massa seca de parte aérea, massa seca de parte aérea/massa seca de raízes, de colmos, total e diâmetro de raízes. *M. oxydans* e a combinação de 100 ou 200 kg N ha⁻¹ proporcionaram os melhores resultados para massa seca de parte aérea, massa seca de parte aérea/massa seca de raízes, de colmos, total e diâmetro de raízes.

O isolado *Lysinibacillus fusiformis* se mostrou promissor, justificando pesquisas para sua formulação como inoculante de mercado, uma vez que se equiparou ao inoculante AzoTotal[®] nas duas safras 2015 e 2016.

5. REFERÊNCIAS

- ABIALA, M.; ODEBODE, A.; HSU, S.; BLACKWOOD, C. Phytobeneficial properties of bacteria isolated from the rhizosphere of maize in southwestern nigerian soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, p. 4736–4743, 2015.
- ALVES, G. C.; VEDEIRA, S. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. **Plant and Soil**, v. 387, p. 307-321, 2014.
- ARAÚJO, F. F.; FOLONI, J. S. S.; WUTZKE, M.; MELEGARI, A. S.; RACK, E. Híbridos e variedades de milho submetidos à inoculação de sementes com *Herbaspirillum seropedicae*. **Semina-Ciências Agrárias**, v. 34, p. 1043-1054, 2013.
- BALDOTTO, M. A.; BALDOTTO, L. E. B.; SANTANA, R. B.; MARCIANO, C. R. Initial performance of maize in response to NPK fertilization, combined with *Herbaspirillum seropedicae*. **Revista Ceres**, v. 59, p. 841-849, 2012.
- BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. Origem e evolução de plantas cultivadas. **EMBRAPA. Empresa Informação Tecnológica**. 1ª ed. Brasília. 2008, p. 912.
- CANELAS, L. P.; BALMORI, D. M.; MEDICI, L. O.; AGUIAR, N. O.; CAMPOSTRINI, E.; ROSA, R. C. C.; FAÇANHA, A. R.; OLIVARES, F. L. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant and Soil**, v. 366, p. 119-132, 2013.
- COSTA, L. E. O. C.; QUEIROZ, M. V.; BORGES, A. C.; MORAES, C. A.; ARAUJO, E. F.; DATTA, C.; BASU, P. Indole acetic acid production by a *Rhizobium* species from root nodules of a leguminous shrub *Cajanus cajan*. **Microbiology Research**, v. 155, p. 123–127, 2002.
- DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MENEZES, C. R.; FREIBERGER, M. B.; CASTOLDI, G.; GONÇALVES, E. D. Maize response to inoculation with strains of plant growth-promoting bacteria. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, p. 606-611, 2016.
- DARTORA, J.; MARINI, D.; GONÇALVES, E. D. V.; GUIMARÃES, V. F. Co-inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* in maize. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, p. 545-550, 2016.
- EGAMBERDIEVA, D. Plant growth promoting properties of rhizobacteria isolated from wheat and pea grown in loamy sand soil. **Turkish Journal of Biology**, v. 32, p. 9-15, 2008.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Sudoeste, Brasília-DF. 2016. Acessado: 01/02/2017. Disponível em: < <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo/graficos>>.

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

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

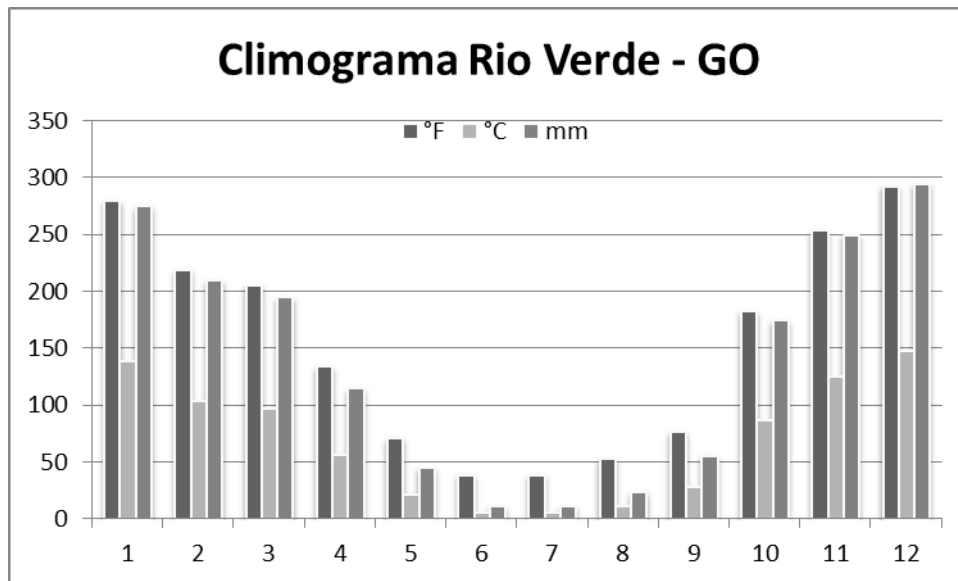
QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, p. 209-218, 2014.

SANTOS, J. S.; VIANA, T. O.; JESUS, C. M.; BALDANI, L. D.; FERREIRA, J. S. Inoculation and isolation of plant growth-promoting bacteria in maize grown in Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 39, p. 78-85, 2015.

SINGH, R. K.; KUMAR, D. P.; SOLANKI, M. K.; SINGH, P.; SRIVASTVA, A. K.; KUMAR, S.; KASHYAP, P. L.; SAXENA, A. K.; SINGHAL, P. K.; ARORA, D. K. Optimization of media components for chitinase production by chickpea rhizosphere associated with *Lysinibacillus fusiformis* B-CM18. **Journal of Basic Microbiology**, v. 53, p. 451–460, 2015.

6. ANEXO

Figura 1. Média de temperatura e precipitação pluviométrica ao longo do ano, no município de Rio Verde, GO.



Fonte: Climate-data.org. (<https://pt.climate-data.org/location/4473/>).

Tabela 1. Características químicas e granulométricas do solo da Área Experimental do IF Goiano - Campus Rio Verde, GO.

pH	P	K	Fe	Mn	Zn	Cu	Na	Ca	Mg	Al	Mat. Org.	Sat. Base	Areia	Silte	Argila
	-----mg dm ⁻³ -----						-----cmol _c dm ⁻³ -----				g dm ⁻³	-----%-----			
6,1	15,2	255	9	60,2	6	1,3	1,8	4,4	1,3	0,03	34,9	55,6	36,2	17,4	46,4

Extratores: Mehlich 1 (P, K, Cu, Fe, Zn e Mn); KCl 1 N (Ca, Mg e Al).

Tabela 2. Massa seca de colmos de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2015).

Tratamentos de inoculação	Massa seca de colmos
	-----mg planta ⁻¹ -----
Controle	45,4a
AzoTotal®	41,4ab
<i>L. fusiformis</i>	35,0b
<i>M. oxydans</i>	46,0a
CV (%)	10,1

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Tabela 3. Massa seca de colmos de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2015).

Dosagens de N (kg ha ⁻¹)	Massa seca de colmos
	-----mg planta ⁻¹ -----
50	36,8b
100	41,5ab
200	47,6a
CV (%)	17,4

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Tabela 4. Peso de mil grãos e produtividade de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2015).

Inoculantes	Peso de mil grãos (g)			Produtividade (kg ha ⁻¹)		
	Doses de nitrogênio (kg ha ⁻¹)					
	50	100	200	50	100	200
Controle	349,73 Aa	343,57 Aa	325,79 Aa	7088,05 Aa	7889,90 Aa	7530,76 Aa
<i>Azo Total</i> [®]	337,89 Aa	352,86 Aa	326,12 Aa	8851,46 Aa	8351,86 Aa	8279,94 Aa
<i>L. fusiformis</i>	378,82 Aa	351,87 Aa	370,32 Aa	8191,89 Aa	8327,31 Aa	8598,83 Aa
<i>M. oxydans</i>	359,45 Aa	371,33 Aa	356,93 Aa	8345,27 Aa	8257,08 Aa	7275,93 Aa
C.V (%)	9,75			11,04		

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Tabela 7. Peso de mil grãos e produtividade de milho cultivado com dosagens de nitrogênio e inoculantes, em Rio Verde, GO (segunda safra / 2016).

Inoculantes	Peso de mil grãos			Produtividade		
	-----Doses de nitrogênio (kg ha ¹)-----					
	50	100	200	50	100	200
Controle	266,51 Aa	293,82 Aa	257,06 Aa	5362,28 Aa	6199,03 Aa	4647,30 Aa
<i>AzoTotal</i> [®]	289,29 Aa	272,61 Aa	271,92 Aa	3615,24 Aa	4431,51 Aa	4793,42 Aa
<i>L. fusiformis</i>	271,81 Aa	270,59 Aa	262,64 Aa	4082,39 Aa	4815,17 Aa	4426,36 Aa
<i>M. oxydans</i>	273,52 Aa	254,41 Aa	277,24 Aa	4082,39 Aa	4452,15 Aa	4556,89 Aa
C.V (%)	9,36			15,13		

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Tabela 8. Síntese dos resultados do ensaio com milho, na segunda safra / 2015. Área Experimental do IF Goiano – Campus Rio Verde.

Inoculantes/kg N ha ⁻¹	Massa seca da parte aérea	Massa seca das raízes	MSPA / MSR	Massa seca dos colmos	Massa seca total	Volume radicular	Área radicular	Diâmetro de raízes
<i>AzoTotal</i> [®] /50	26,6Aa	-	8,9ABa	-	-	-	3450,9ABa	-
<i>AzoTotal</i> [®] /100	23,3Aa	3,3Aa	7,3Aa	-	-	3554,6Aa	5127,4Aa	-
<i>L. fusiformis</i> /50	32,7Aa	7,6Aa	-	-	-	9149,2Aa	5802,3Aa	-
<i>L. fusiformis</i> /100	-	-	6,6Aab	-	-	2461,9Ab	1834,5ABb	-
<i>M. oxydans</i> /50	27,2Aa	-	-	-	-	4282,5ABb	3139,5ABab	-
<i>M. oxydans</i> /100	-	4,1Aa	-	-	-	1286,9Ab	-	-
<i>M. oxydans</i> /200	-	2,8ABa	-	-	-	12245,3Aa	4210,8Aa	-

(-) ausência de diferença. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Tabela 9. Síntese dos resultados do ensaio com milho, na segunda safra / 2016. Área Experimental do IF Goiano – Campus Rio Verde.

Inoculantes/kg N ha ⁻¹	Massa seca da parte aérea	Massa seca da raízes	MSPA / MSR	Massa seca da colmos	Massa seca total	Volume radicular	Área radicular	Diâmetro de raízes
<i>AzoTotal</i> [®] /50	50,0Aa	-	3,7Aa	26,6Aa	89,9Aa	-	-	2,1Aa
<i>AzoTotal</i> [®] /100	39,3Ab	-	2,9Ab	23,6Aab	77,3Ab	-	-	1,1Ab
<i>L. fusiformis</i> /50	-	-	3,3ABa	25,9ABa	78,1ABa	-	-	-
<i>L. fusiformis</i> /100	36,0Aa	-	2,4Ab	23,7Aa	74,6Aa	-	-	1,0Aa
<i>M. oxydans</i> /50	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. oxydans</i> /100	35,9Ab	-	2,5Ab	23,4Ab	73,6Ab	-	-	0,8Aa
<i>M. oxydans</i> /200	46,5Aa	-	3,5ABa	29,7Aa	89,5Aa	-	-	0,9Aa

(-) ausência de diferença. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).