

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

IAN VICTOR DE ALMEIDA

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL EM
MILHO: ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO, SOLUBILIZAÇÃO DE
FOSFATO E PRODUÇÃO**

RECIFE

2020

Ian Victor de Almeida
Engenheiro Agrônomo

**Bactérias promotoras de crescimento vegetal em milho: absorção de nitrogênio,
solubilização de fosfato e produção**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Fernando José Freire

Coorientadora: Dra. Danubia Ramos Moreira de Lima

Recife-PE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- V686b Almeida, Ian Victor de Almeida
Bactérias promotoras de crescimento vegetal em milho: absorção de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção / Ian Victor de Almeida Almeida. - 2020.
69 f. : il.
- Orientador: Fernando Jose Freire.
Coorientador: Danubia Ramos Moreira de Lima.
Inclui referências.
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Recife, 2020.
1. Zea Mays. 2. Promoção de Crescimento Vegetal. 3. Bactérias Fixadoras de N. 4. Disponibilidade de P. I. Freire, Fernando Jose, orient. II. Lima, Danubia Ramos Moreira de, coorient. III. Título

CDD 631.4

IAN VICTOR DE ALMEIDA

Bactérias promotoras de crescimento vegetal em milho: absorção de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Aprovada em 31 de janeiro de 2020

Prof. Dr. Fernando José Freire dos Santos
Orientador
Universidade Federal Rural de Pernambuco

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Lemos dos Santos
Instituto Federal de Pernambuco, Campus Vitória de Santo Antão-PE

Dr. Jailson Cavalcante Cunha
Sócio-gerente do Plant Soil Laboratórios

A minha mãe Neusa e
minha noiva Mariana
Por todo amor e apoio.

Dedico.

Aos meus Avós
Antônio Victor de Abreu (*in memoriam*)

Lindalva Freire dos Santos

Ofereço.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar a permissão de chegar até aqui.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade de aquisição de conhecimento científico de qualidade.

A minha mãe Neusa, por tudo que representa. Por ser um grande exemplo de ética, caráter e resiliência. Pelo amor, suporte, incentivo e, sobretudo, por nortear o meu caminho. Se cheguei até aqui, devo tudo a você.

A minha noiva Mariana, pelo amor, compreensão e companheirismo. Por estar sempre ao meu lado, sejam os dias brancos ou não. Meu sogro, Marcelo, pela grande força que deu durante as viagens a campo. E a meu querido Shake, pelos momentos de descontração, tornando meus dias mais leves.

Aos meus familiares, em especial meu irmão Luigi, pelo qual sou grato pelos cuidados e apoio de sempre. A minha vó Lindalva por todo amor e carinho, pelas boas lembranças de infância, as quais sempre trago comigo.

Ao meu orientador Professor Fernando Freire, pelos ensinamentos, paciência, compreensão e confiança na realização deste trabalho.

Ao professor Renato do IFPE (Campus Vitória de Santo Antão/PE), pelos ensinamentos e conselhos. Pela grande contribuição, sem a qual não chegaria até aqui. E também aos alunos do Laboratório de Fertilidade e Agroenergia, que foram imprescindíveis para a realização deste trabalho.

A minha coorientadora Danubia, por todo apoio prestado para a realização desta pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pelos valiosos conhecimentos dispensados, sobretudo a professora Maria Betânia e ao professor Mário Lira Jr.

Aos colegas de Pós-Graduação e funcionários que contribuíram para o andamento desta pesquisa, especialmente ao técnico Pedro, pelo suporte na realização das análises de solo e à Maria do Socorro, pelo carinho, atenção e a sua alegria contagiante.

Finalmente, a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para realização desse trabalho. Muito obrigado!

Bactérias promotoras de crescimento vegetal em milho: absorção de nitrogênio, solubilização de fosfato e produção

RESUMO

A utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) em gramíneas tem o potencial de otimizar o uso de fertilizantes nitrogenados e solubilizar fosfato. A consolidação do uso das BPCV em sistemas de produção de milho, entretanto, depende de estirpes nativas e adaptadas às regiões de cultivo. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inoculação de estirpes regionais/locais na promoção de crescimento de milho. Um ensaio de campo foi conduzido em Vertissolo cultivado com milho, no município de Passira-PE, Brasil. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com cinco tratamentos de inoculação, três testemunhas e quatro repetições, totalizando 32 parcelas experimentais. A inoculação correspondeu a adição das bactérias: *Azospirillum brasilense* (AZO); *Bacillus* spp (BAC); *Pseudomonas* spp. (PSE); *Stenotrophomonas* spp. (STE) e um MIX (BAC+ PSE + STE), combinados com 50% da dose recomendada de N em cobertura (30 kg ha^{-1}). As testemunhas foram designadas como: TA (testemunha absoluta), que não recebeu inoculação e não foi adubada com N; T50, não inoculada, mas adubada com 50% do N em cobertura; e T100, que recebeu 100% do N em cobertura (60 kg ha^{-1}). Adicionalmente, com exceção do TA, todos os tratamentos receberam N em fundação (30 kg ha^{-1} de N). As avaliações foram realizadas em seis períodos: 15, 20, 36, 50, 70 e 90 dias após a emergência (DAE). Avaliou-se variáveis de crescimento e fisiologia das plantas, promoção do crescimento vegetal e produtividade de espigas. A inoculação com STE e BAC promoveu incrementos de 10,50 e 13,44% na área foliar das plantas, respectivamente. BAC e STE acumularam 276 e 239 kg ha^{-1} de N, equiparando-se ao T100. As BPCV adicionadas e as nativas no TA, solubilizaram P ligado a Ca no solo rizosférico e as testemunhas nitrogenadas inibiram a solubilização. Os tratamentos AZO, BAC, STE e MIX foram responsáveis por 73% do conteúdo de P na parte aérea do milho. BAC e AZO apresentaram o melhor desempenho de produtividade de espigas, equiparando-se ao T100. Os incrementos foram de 12,80% (AZO) e 17,58% (BAC). *Bacillus* sp. e *Azospirillum brasilense* foram as BPCV mais eficientes para a cultura do milho. O desempenho satisfatório de *Bacillus* sp. pode ser considerado em pesquisas futuras, relacionadas à produção de bioinoculantes para uso no cultivo de milho no ambiente estudado.

Palavras-chave: *Zea mays*. Promoção do crescimento vegetal. Bactérias fixadoras de N. disponibilidade de P.

Plant Growth Promoting Bacteria on Maize: Nitrogen Absorption, Phosphate Solubilization and Production

ABSTRACT

The use of plant growth promoting bacteria (PGPB) in grasses has the potential to optimize the use of nitrogen fertilizers and solubilize phosphate. The consolidation of PGPB use in maize production systems, however, depends on native strains adapted to the growing regions. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of inoculation of regional / local strains on maize growth promotion. A field trial was conducted on maize-grown Vertisol in Passira-PE, Brazil. The experimental design was randomized blocks, with five inoculation treatments, three controls and four replications, totaling 32 experimental plots. Inoculation corresponded to the addition of bacteria: *Azospirillum brasilense* (AZO); *Bacillus sp.* (BAC); *Pseudomonas spp.* (PSE); *Stenotrophomonas spp.* (STE) and one MIX (BAC + PSE + STE), combined with 50% of the recommended N coverage dose (30 kg ha⁻¹). The witnesses were designated as: TA (absolute witness), who received no inoculation and was not fertilized with N; T50, not inoculated, but fertilized with 50% N in coverage; and T100, which received 100% of N in coverage (60 kg ha⁻¹). Additionally, with the exception of TA, all treatments received N in base (30 kg ha⁻¹ of N). The evaluations were performed in six periods: 15, 20, 36, 50, 70 and 90 days after emergence (DAE). Plant growth and physiology variables, plant growth promotion and ear productivity were evaluated. Inoculation with STE and BAC promoted increments of 10.50 and 13.44% in plant leaf area, respectively. BAC and STE accumulated 276 and 239 kg ha⁻¹ of N, matching the T100. PGPB added and TA native solubilized Ca-bound P in the rhizospheric soil and the nitrogenous controls inhibited solubilization. The AZO, BAC, STE and MIX treatments accounted for 73% of the P content in maize aboveground. BAC and AZO had the best performance of ear yields compared to the T100. The increments were 12.80% (AZO) and 17.58% (BAC). *Bacillus sp.* and *Azospirillum brasilense* were the most efficient PGPB for maize culture. The satisfactory performance of *Bacillus sp.* can be considered in future research, related to the production of bio-inoculants for use in the cultivation of corn in the studied environment.

Keywords: *Zea mays*. Plant growth promoting. Nitrogen-fixing bacteria. P availability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Georreferência do local do ensaio de campo. Passira-PE, Brasil.	23
Figura 2. Regime hídrico (precipitação pluvial e irrigação) e temperatura durante o ensaio de campo. Passira-PE, Brasil.....	24
Figura 3. Desenho experimental indicando o arranjo dos tratamentos no local do ensaio. Passira-PE, Brasil.	26
Figura 4. Estádios fenológicos observados em campo e atividades realizadas durante o ensaio. Adaptado de Pioneer (2019).	28
Figura 5. Altura de planta (A) e diâmetro do colmo (B) em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho.	33
Figura 6. Área foliar (A) e índice de área foliar (B) em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho.	35
Figura 7. Índice relativo de clorofila em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. Observações aos 50 DAE (A) e 70 DAE (B).	37
Figura 8. Parâmetros da emissão da fluorescência da clorofila em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. Observações em F0 aos 50 e 70 DAE (A); Fv aos 50 e 70 DAE (B); Fm aos 50 e 70 DAE (C) e Fv/Fm aos 50 e 70 DAE (D).	39
Figura 9. Parâmetros de trocas gasosas em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. Observações em F0 aos 50 e 70 DAE (A); Fv aos 50 e 70 DAE (B); Fm aos 50 e 70 DAE (C) e Fv/Fm aos 50 e 70 DAE (D).	40
Figura 10. Biomassa na parte aérea em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho.	42
Figura 11. Acúmulo de nitrogênio na parte aérea em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho.	44

Figura 12. Atividade da Nitrogenase em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho.	46
Figura 13. Solubilização de P-Ca no solo rizosférico em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho.	47
Figura 14. Acúmulo de P na parte aérea de plantas de milho em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho.	50
Figura 15. Produtividade de espigas com e sem palha no ponto de silagem em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho.....	51

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Hipóteses	18
1.2. Objetivo geral	18
1.3. Objetivos específicos	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 O uso de N e P e o viés da sustentabilidade na agricultura	19
2.2. Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV) na cultura do Milho	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Descrição e caracterização da área experimental	23
3.2. Descrição do ensaio experimental	25
3.3. Tratamentos e condução do experimento	26
3.4. Variáveis analisadas e métodos aplicados	28
3.4.1. Crescimento das plantas de milho	28
3.4.1.1. Altura de planta e diâmetro do colmo	28
3.4.1.2. Área foliar e índice de área foliar	29
3.4.2. Fisiologia das plantas de milho	29
3.4.2.1. Índice Relativo de Clorofila (IRC)	29
3.4.2.2. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	29
3.4.2.3. Trocas gasosas	30
3.4.3. Promoção do crescimento vegetal	30
3.4.3.1. Biomassa seca da parte aérea	30
3.4.3.2. Acúmulo de N na parte aérea	30
3.4.3.3. Atividade da nitrogenase	31
3.4.3.4. Solubilização de fosfato	31
3.4.3.5. Conteúdo de P na parte aérea	32

3.4.4. Produtividade de espigas no ponto de ensilagem.....	32
3.4.5. Análise estatística.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Crescimento das plantas de milho.....	33
4.1.1. Altura da planta e diâmetro do colmo	33
4.1.2. Área foliar e índice de área foliar.....	34
4.2. Fisiologia das plantas de milho.....	36
4.2.1. Índice relativo de clorofila (ICR)	36
4.2.2. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	38
4.2.3. Trocas gasosas.....	40
4.3. Promoção do crescimento vegetal	41
4.3.1. Biomassa seca da parte aérea	41
4.3.2. Acúmulo de N na parte aérea	43
4.3.3. Atividade da nitrogenase.....	45
4.3.4. Solubilização de fosfato	47
4.3.5. Conteúdo de P na parte aérea	49
4.4. Produtividade de espigas no ponto de ensilagem.....	51
5. CONCLUSÕES.....	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1. INTRODUÇÃO

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) estima que a população mundial crescerá em ritmo contínuo e acelerado, alcançando cerca de 10 bilhões de pessoas em 2050. Consequentemente, a produção agrícola precisará aumentar a taxas substancialmente mais rápidas que nos últimos 50 anos, para atender plenamente à demanda por alimentos nos próximos anos (FAO, 2018).

O uso intensivo de fertilizantes minerais, sobretudo nitrogenados e fosfatados sempre teve, como propósito, elevar o rendimento dos agroecossistemas. Atualmente, sabe-se que, a fertilização excessiva do solo é uma prática insustentável do ponto de vista ambiental (LIU; PAN; LI, 2014).

O processo de produção de fertilizantes nitrogenados é dispendioso e requer alto consumo de combustíveis fósseis. Por outro lado, parte dos adubos fosfatados são derivados de fosfato de rocha, cujas reservas podem se esgotar nos próximos anos (BLACKWELL; DARCH; HASLAM, 2019). Adicionalmente, a aplicação em excesso de N e P no solo, pode afetar a qualidade do ar e da água, oferecendo riscos à qualidade ambiental e a saúde humana (EPA, 2019).

A inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) é uma alternativa para substituição ou otimização de uso destes fertilizantes. As BPCV estabelecem interações benéficas com as plantas, promovendo seu desenvolvimento por meio de mecanismos diretos como: fixação biológica de N (FBN); solubilização biológica de fosfato; e produção de sideróforos (AHEMAD; KIBRET, 2014). Indiretamente, esses microrganismos impulsionam o crescimento vegetal pela síntese de enzimas e fitormônios. Em muitos casos, esses mecanismos atuam de forma conjunta, tornando o uso de BPCV na produção agrícola ainda mais vantajoso (BACKER et al., 2018).

A inconsistência dos resultados obtidos em campo, entretanto, tem limitado a utilização de BPCV em larga escala nos sistemas de produção de cereais, como o milho (ZAHID et al., 2015). Isso pode estar vinculado a indisponibilidade de microrganismos específicos, adaptados e recomendados para uso em cada ambiente de produção (ZAHID et al., 2015). No Brasil, apenas em 2009 as primeiras estirpes bacterianas da espécie *Azospirillum brasilense* foram registradas para utilização como inoculante em milho (HUNGRIA, 2010; HUNGRIA, 2011).

Neste sentido, torna-se necessário avaliar gêneros/espécies bacterianos, além de *A. brasilense*, que possam contribuir para a consolidação do uso de BPCV, como insumo na produção de milho. Para isso, parte-se do pressuposto que estirpes nativas, comprovadamente

promotoras de crescimento vegetal, estão adaptadas ao ambiente de sua região de origem. Logo, acredita-se, que estas bactérias dispõem de recursos diferenciados para promover o crescimento de plantas de milho cultivadas neste local.

1.1. Hipóteses

- No ambiente estudado, as estirpes regionais/locais, *Bacillus sp.* *Pseudomonas spp.*, e *Stenotrophomonas spp.* são eficientes na promoção de crescimento do milho.
- No ambiente estudado, as estirpes regionais/locais, *Bacillus sp.* *Pseudomonas spp.*, e *Stenotrophomonas spp.* e a aplicação de 50% de N em cobertura propiciam às plantas de milho, desenvolvimento igual ou superior a testemunha fertilizada com 100% da dose de N recomendada.
- No ambiente estudado, as estirpes regionais/locais, *Bacillus sp.* *Pseudomonas spp.*, e *Stenotrophomonas spp.* propiciam às plantas de milho, desenvolvimento igual ou superior à *Azospirillum brasilense*, inoculante comercial.

1.2. Objetivo geral

Avaliar o efeito da inoculação de estirpes regionais/locais na promoção de crescimento da cultura do milho.

1.3. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da inoculação de BPCV no desempenho de um híbrido de milho adubado com 50% da dose de N recomendada em cobertura.
- Comparar a resposta do milho à inoculação com estirpes regionais/locais e *Azospirillum brasilense*, inoculante comercial.
- Avaliar a atividade da nitrogenase em função da inoculação de BPCV e adubação nitrogenada.
- Avaliar a solubilização biológica de fosfato em condições de campo, através do fracionamento do P no solo rizosférico;

- Estudar os efeitos da inoculação de BPCV sobre o desenvolvimento do milho, em diferentes fases fenológicas das plantas, analisando variáveis biométricas, fisiológicas, de promoção do crescimento e produtividade da cultura do milho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O uso de N e P e o viés da sustentabilidade na agricultura

A expansão da agricultura associada à conversão de novas terras e o uso intensivo do solo em áreas já submetidas à agricultura, utilizando variedades de alto rendimento e exigência em fertilização, tem enfrentado nos últimos anos uma grande pressão para a adoção de estratégias de manejo que garantam a viabilidade da produção em longo prazo. A agricultura deve buscar a sustentabilidade ambiental e econômica, visando economizar ao máximo, os recursos naturais não renováveis (BAREA, 2015).

Os sistemas de produção em todo mundo variam com os fatores climáticos e com a fertilidade do solo. Existe um requerimento de nutrientes, sobretudo do N para o pleno desenvolvimento das culturas. Os fertilizantes nitrogenados passaram a ser utilizados em maior quantidade, após o desenvolvimento do processo Haber-Bosch no início do século XX, bem como o advento da “Revolução Verde”, quando surgiram novos genótipos com maior capacidade de resposta às aplicações de N (HAWKESFORD, 2014). Atualmente, estima-se que aproximadamente 100 Mt ano⁻¹ de N fixado industrialmente seja utilizado pela agricultura em todo o mundo. No Brasil, em 2017, a quantidade de fertilizantes nitrogenados destinados ao uso agrícola foi de 5,2 Mt ano⁻¹ (FAOSTAT, 2019).

A adubação nitrogenada representa um alto custo ambiental, uma vez que a produção de fertilizantes requer um elevado consumo de energia, representando 1,2% da demanda global de energia primária, proveniente em grande parte de fontes naturais não-renováveis (AHLGREN et al., 2010). Além disso, estima-se que apenas 30-50% do N aplicado seja absorvido pelas culturas, sendo o restante perdido por lixiviação, volatilização e desnitrificação (SMIL, 1999).

A perda de N no sistema solo/planta contribui para a contaminação do lençol freático por nitrato, bem como a poluição atmosférica através das reações dos óxidos nitroso, nítrico e da amônia. Esses processos podem afetar a saúde humana, as culturas agrícolas e os ecossistemas terrestres e aquáticos (CHOUDHURY; KENNEDY, 2005).

Do mesmo modo que o uso excessivo de N apresenta muitos problemas ambientais, o uso excessivo de P como fertilizante também apresenta um custo ambiental bastante elevado. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), no Brasil, a utilização de fertilizantes fosfatados na agricultura foi de 5,15 Mt ano⁻¹, em 2017. A FAO estimou que aproximadamente 15% a 30% de P como fertilizante é realmente consumido pelas lavouras, geralmente porque os fertilizantes são aplicados muito além da demanda das plantas (FAO, 2006; FAOSTAT, 2019). Parte do P é fixado no solo, de forma que fica indisponível às culturas, sendo o restante perdido por escoamento, contribuindo para a eutrofização de águas doces. Quase 25% dos 250 bilhões de Mt de P mineral produzidos desde 1950 acabaram em corpos d'água ou aterros sanitários (CHILDERS et al., 2011).

Os fertilizantes fosfatados são oriundos de rocha fosfática, cujas reservas tem uma distribuição desigual entre os países, e grande parte está concentrada em territórios disputados no Saara Ocidental. Como um recurso mineral não renovável, há uma tendência para o esgotamento do P para produção de fertilizantes, o que pode acarretar em implicações para a segurança alimentar global (VILLALBA et al., 2008).

Neste sentido, a produção agrícola está intimamente relacionada com a nutrição das plantas. Para a obtenção de elevada produtividade em paralelo a redução da utilização de fertilizantes nitrogenados e fosfatados, se faz necessário a busca por alternativas que aumentem a eficiência de uso dos fertilizantes pelas culturas (FLORES et al., 2012).

2.2. Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (BPCV) na cultura do Milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea importante no cenário agrícola mundial. Esta cultura, reconhecida pelos múltiplos usos, ainda é o alimento de subsistência para a população de países em desenvolvimento, como por exemplo Brasil e África, onde o consumo tem superado 300 g/pessoa/dia (RANUM; PEÑA-ROSAS; GARCIA-CASAL, 2014). No Brasil, o cereal também é produzido em grandes áreas para o uso como forrageira, sendo um dos principais componentes da ração animal (PAVÃO; FERREIRA FILHO, 2011).

A absorção de N está envolvida diretamente no aumento da produção de massa seca, proteína bruta e fibra bruta (AMIN, 2011) e no rendimento de grãos de milho (YAN et al., 2017). Com relação ao requerimento de N, dados na literatura mostram boa resposta do milho a aplicações que variam de 90 a 316 kg ha⁻¹ (ANDRADE et al., 2012; SANTOS et al., 2013; ROBERTS et al., 2016).

Diante do custo ambiental associado à utilização de fertilizantes nitrogenados minerais, da importância agrícola do milho e da elevada demanda por N dessa cultura, torna-se necessária a busca por alternativas sustentáveis, que aumentem a eficiência de uso do nutriente pelas plantas e reduzam a quantidade de fertilizantes aplicada nos ambientes de produção. Dentre estas alternativas, a manipulação dos microbiomas do solo e das plantas com posterior uso na agricultura, tem sido objeto de muitos estudos (FUKAMI et al., 2016; MORAIS et al., 2016; FINKEL et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017).

Existem diversos tipos de associações entre plantas e microrganismos. Esses microrganismos podem ser benéficos, prejudiciais ou neutros de acordo com seus efeitos no desenvolvimento das plantas (DOBBELAERE; VANDERLEYDEN; OKON, 2003). A colonização por bactérias é realizada em todos os tecidos vegetais, e pode ocorrer na rizosfera, o solo próximo às raízes (até 3 mm de distância) (KOLB; MARTIN, 1988); na filosfera, a superfície dos órgãos aéreos; e na endosfera, os tecidos internos da planta (DONG et al., 2019). Desta forma, a comunidade bacteriana pode ser dividida em três grupos: o primeiro reúne os microrganismos rizosféricos, residentes na zona radicular; o segundo, constituído pelos microrganismos epifíticos, que habitam a filosfera; e o terceiro é formado por bactérias endofíticas, que colonizam os tecidos internos do caule, folhas ou raízes (TURNER; JAMES; POOLE, 2013; MARTIN et al., 1989).

A comunidade bacteriana da rizosfera possui uma maior diversidade microbiana, tanto por ser uma região onde há constante deposição de nutrientes, quanto por permitir a sobrevivência dos microrganismos por muito tempo, mesmo que em estado inativo. Já a filosfera está limitada a fatores ambientais como, escassa disponibilidade de nutrientes, variações de temperatura, umidade e radiação, bem como a produção de compostos antimicrobianos pela própria planta ou outros microrganismos. (VORHOLT, 2012; PRASHAR; KAPOOR; SACHDEVA, 2013). As bactérias endofíticas podem exercer uma vantagem em relação às rizosféricas, uma vez que viver dentro dos tecidos das plantas representa uma oportunidade de estar sempre em contato com as células, e assim, promover um efeito benéfico direto (SANTOYOA et al., 2016)

Diferente do que ocorre com leguminosas, em gramíneas não há formação de nódulos radiculares. As bactérias rizosféricas são atraídas por exsudatos liberados pelas raízes, e a aproximação é feita devido à afinidade quimiotática dos microrganismos pelos compostos produzidos pela planta, como mucilagem, aminoácidos, carboidratos, álcoois, vitaminas e hormônios (HAWES et al., 2000).

Diante das inúmeras funcionalidades dos microrganismos, o interesse agrícola está voltado, sobretudo, para o grupo de bactérias que tem a capacidade de estimular o crescimento e desenvolvimento das plantas, razão pela qual são conhecidas como bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) (HUNGRIA et al., 2010). Os mecanismos provenientes de processos genéticos nas BPCV podem envolver a disponibilidade de nutrientes, como a FBN e solubilização de fosfato, atenuação de estresse através da modulação da expressão da enzima ACC desaminase, produção de sideróforos e fito-hormônios como o ácido 3-indol-acético (AIA), dentre outros (BALDANI et al., 1997; GLICK, 2005, SANTOS et al., 2015).

Na literatura há uma grande variedade de BPCV reconhecidas, distribuídas em gêneros como *Azospirillum* (OLIVEIRA et al., 2017), *Serratia* (AGBODJATO et al., 2015); *Pseudomonas* (MOSIMANN et al., 2017); *Herbaspirillum* (SANTOS et al., 2015), *Klebsiella*, *Burkholderia* (ALVES et al., 2015), *Bacillus* (LIMA et al., 2019) *Stenotrophomonas* (YOUSEIF, 2018), dentre outros. Nos últimos anos pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de produzir inoculantes a partir dos diversos gêneros de BPCV, com a expectativa de efeitos benéficos que impliquem na redução do uso de fertilizantes.

Na cultura do milho, Marks et al. (2015), avaliando o efeito da inoculação por *Azospirillum brasilense*, verificaram ganhos significativos no peso seco da parte aérea, N total acumulado e rendimento de grãos. Alves et al. (2014) inoculando cepas de *Herbaspirillum seropedicae* em campo, observaram um aumento de até 34% na produtividade, bem como, obtenção de 37% do N por fixação biológica.

Pande, Pandey e Kaushik (2017) constataram o efeito sinérgico da co-inoculação entre as cepas *Burkholderia cepacia* (C1) e *Alcaligenes aquatilis* (H6), que apresentaram elevada capacidade de liberação de fosfato solúvel, assim como, aumento significativo dos parâmetros de crescimento vegetal em relação aos demais tratamentos. Mishra et al. (2011) avaliando *Pantoea agglomerans*, obtiveram respostas significativamente superiores para todos os parâmetros de crescimento do milho em relação ao controle não inoculado, além do aumento significativo na absorção dos macronutrientes N, P e K.

Para a cultura do milho já existe um inoculante com a bactéria *Azospirillum* sp. registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que é capaz de reduzir de 25 a 50% o uso da adubação nitrogenada (HUNGRIA, 2011; EMBRAPA, 2011; HUNGRIA 2016). Contudo é necessário investigar outros gêneros bacterianos mais eficientes e que demandem o uso de uma menor quantidade de N para a produção da cultura do milho. Nesses estudos é necessário considerar estirpes que foram isoladas e identificadas em ambientes regionais/locais. Pode ser que essas estirpes promovam um maior desenvolvimento das plantas

por suas adaptações e especificações locais. Neste sentido, o estudo de BPCV é importante não apenas para entender o papel ecológico dessas bactérias em sua interação no sistema solo/planta, mas também para elevar a capacidade de aplicação biotecnológica desses microrganismos em campo como biofertilizantes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Descrição e caracterização da área experimental

Um experimento de campo foi conduzido entre novembro de 2018 e fevereiro de 2019, em uma área de cultivo de milho, no município de Passira-PE, Brasil ($7^{\circ} 58' 30,86''$ S, $35^{\circ} 31' 1,07''$ W) (Figura 1).

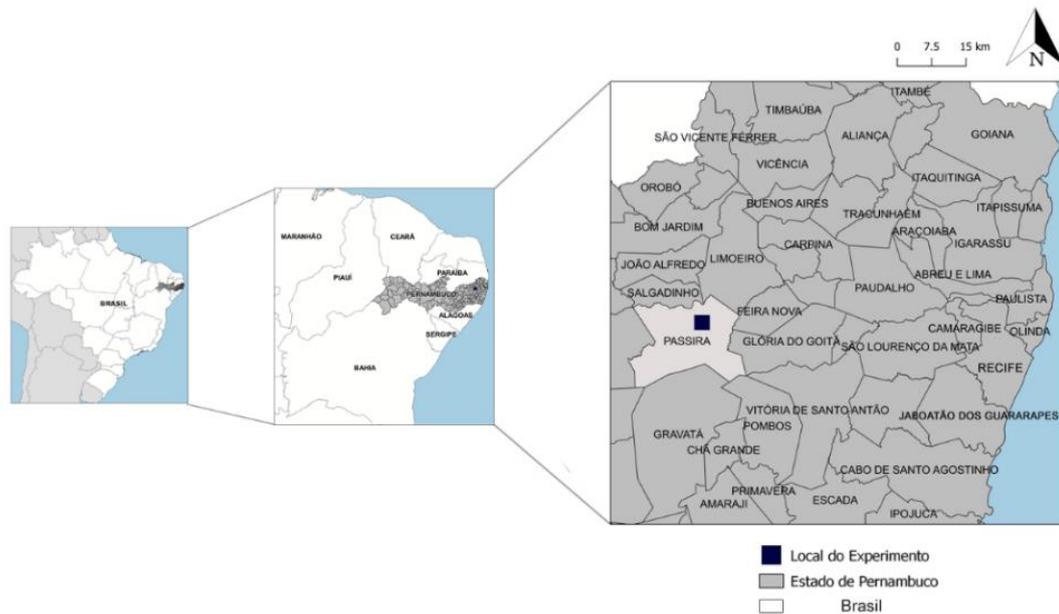


Figura 1. Georreferência do local do ensaio de campo. Passira-PE, Brasil

O clima regional é do tipo Bs'h da classificação de Köppen, árido ou semiárido, muito quente, com chuvas no outono e inverno (ALVARES et al., 2013). A precipitação média anual varia entre 600 mm e 1.000 mm, e a temperatura média anual de 24°C (BELTRÃO et al., 2005). A precipitação pluvial durante o experimento foi de 123 mm, e a temperatura média de 26°C . Para atender à necessidade hídrica foi utilizada irrigação por gotejamento, com espaçamento entre gotejadores de 0,20 m. A ET_0 por meio do método de Penman-Monteith (FAO 56) (ALLEN et al., 1998) e os valores de K_c obtidos por Santos et al. (2014). Foram aplicadas lâminas de água de aproximadamente 4 mm dia^{-1} durante os três meses de ensaio (Figura 2).

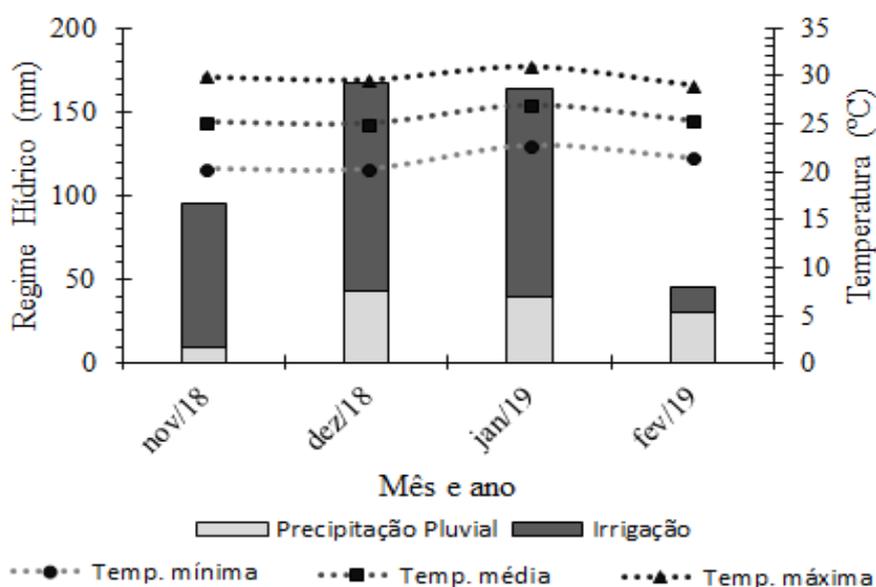


Figura 2. Regime hídrico (precipitação pluvial e irrigação) e temperatura durante o ensaio de campo. Passira-PE, Brasil

O solo do local do ensaio foi classificado como Vertissolo, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (EMBRAPA, 2018).

A caracterização química do solo foi realizada com a determinação do pH (água), Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Al^{3+} , acidez potencial (H+Al) e matéria orgânica do solo (MOS). Por meio dos resultados destas análises calculou-se a saturação por bases (V), percentagem de sódio trocável (PST), capacidade de troca de cátions efetiva (CTC efetiva) e capacidade de troca de cátions potencial (CTC potencial) (Tabela 1).

A caracterização física do solo foi realizada com a determinação da granulometria, densidade do solo e densidade de partículas. A determinação da granulometria do solo permitiu definir sua classe textural e com as densidades se calculou a porosidade total do solo. As análises químicas e físicas do solo, foram realizadas de acordo com a metodologia proposta pelo Manual de Métodos de Análise de Solo da EMBRAPA (EMBRAPA, 2017).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo em diferentes profundidades na área do ensaio de campo. Passira-PE, Brasil

Atributo	Profundidade (m)	
	0,0-0,2	0,2-0,4
pH _{água} (1:2,5)	6,60	6,60
(H+Al) (cmolc dm ⁻³)	1,80	2,00
Ca ²⁺ (cmolc dm ⁻³)	11,40	14,80
Mg ²⁺ (cmolc dm ⁻³)	5,10	6,20
Al ³⁺ (cmolc dm ⁻³)	0,00	0,00
Na ⁺ (cmolc dm ⁻³)	1,23	1,15
K ⁺ (cmolc dm ⁻³)	0,13	0,10
P (mg dm ⁻³)	2,00	1,00
MOS (g kg ⁻¹) ¹	11,90	14,50
CTC efetiva (cmolc dm ⁻³) ²	17,86	22,25
CTC potencial (cmolc dm ⁻³) ³	19,66	24,25
V (%) ⁴	90,84	91,75
PST (%) ⁵	6,26	4,74
Areia Total (g kg ⁻¹)	300	375
Areia Grossa (g kg ⁻¹)	140	262
Areia Fina (g kg ⁻¹)	160	113
Silte (g kg ⁻¹)	350	212
Argila (g kg ⁻¹)	350	413
Classe Textural	Franco Argiloso	Franco Argiloso
Ds (kg dm ⁻³) ⁶	1,44	1,14
Dp (kg dm ⁻³) ⁷	2,58	2,74
PT (%) ⁸	44,19	55,67

Matéria orgânica do solo¹; Capacidade de troca de cátions efetiva²; Capacidade de troca de cátions potencial³; Saturação por bases⁴; Percentagem de sódio trocável (PST)⁵; Densidade do solo⁶; Densidade de partículas⁷; Porosidade total⁸.

3.2. Descrição do ensaio experimental

O experimento foi instalado em condições de campo, utilizando o híbrido de milho, comercial 30F35VYHR, com aptidão para silagem. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, onde foram distribuídos cinco tratamentos de inoculação e três testemunhas, com quatro repetições, totalizando 32 parcelas experimentais.

Cada parcela foi composta por seis linhas de seis metros de comprimento, espaçadas por um metro, totalizando 36 m². Quanto a densidade de semeadura, foram utilizadas cinco plantas/m linear. A área útil foi formada pelas quatro linhas centrais, descartando-se 0,5 m de cada extremidade, totalizando 20 m². Uma linha, localizada em cada extremidade da área útil, foi utilizada para realização das amostragens destrutivas e as duas linhas centrais para as amostragens não destrutivas (Figura 3).

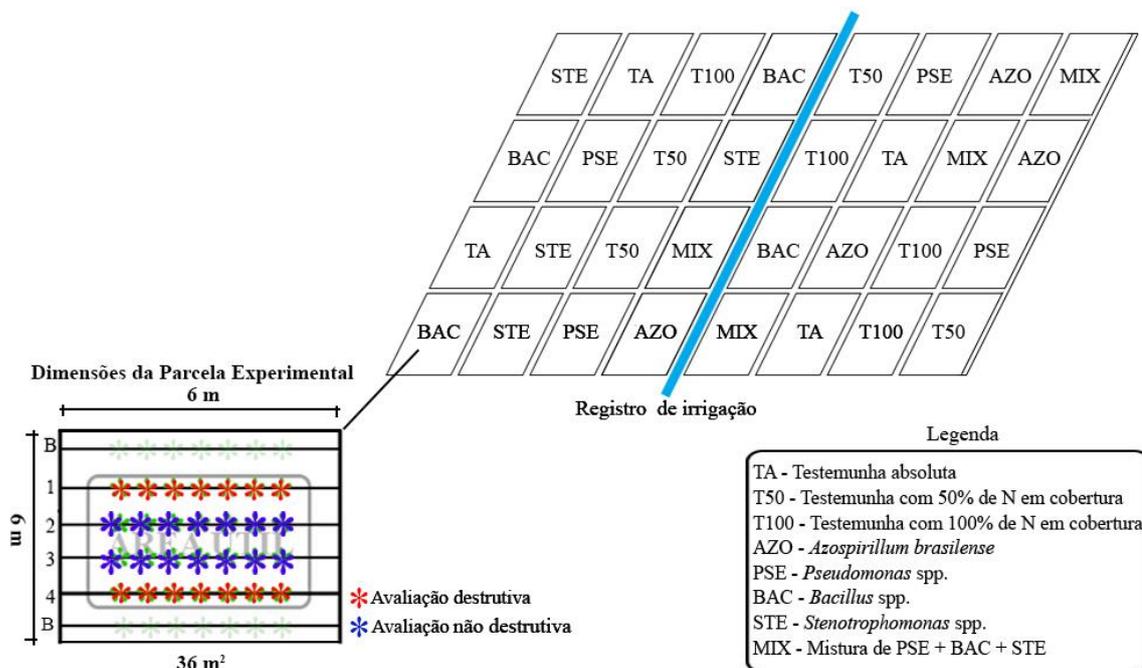


Figura 3. Desenho experimental indicando o arranjo dos tratamentos no local do ensaio. Passira-PE, Brasil

3.3. Tratamentos e condução do experimento

O preparo do solo foi realizado de forma convencional, por meio de gradagem, com as linhas de plantio abertas manualmente. A correção do pH não foi necessária, visto que o valor estava em 6,6 no momento da implantação do ensaio (Tabela 1). Para a adubação, utilizou-se como referência o Manual de Recomendação de Adubação para o Estado de Pernambuco (IPA, 2008).

Tendo como suporte, os resultados apresentados por Hungria et al. (2010), Hungria (2011), Fukami et al. (2016), dentre outras pesquisas realizadas com BPCV na cultura do milho, optou-se por adotar as condições preconizadas por estes autores, para responder as hipóteses do presente estudo. É consenso que *Azospirillum brasilense* (AZO) promove rendimentos satisfatórios quando se faz, convencionalmente, a adubação nitrogenada na base e, posteriormente, se aplica entre 50 e 75% da quantidade recomendada de N em cobertura (EMBRAPA 2011; HUNGRIA 2016).

Neste sentido, optou-se por oferecer condições semelhantes às bactérias (regionais/locais) em comparação com as estirpes de AZO. Deste modo, adotou-se para os tratamentos inoculados, 50% da dose local recomendada para N em cobertura. Além disso, foi incluído uma testemunha nitrogenada, com 100% de N em cobertura (T100).

Neste sentido, o experimento foi composto por oito tratamentos: cinco tratamentos corresponderam a inoculação de bactérias *Azospirillum brasilense* (AZO); *Bacillus* spp (BAC); *Pseudomonas* spp. (PSE); *Stenotrophomonas* spp. (STE) e um MIX - composto pela mistura de (BAC, PSE e STE) combinados com 50% da dose recomendada de N (sulfato de amônio) em cobertura, equivalente a 30 kg ha⁻¹ de N (IPA, 2008). Adotou-se três testemunhas: TA (testemunha absoluta), que não recebeu inoculação e não foi adubada com N; T50 que, como os tratamentos inoculados, recebeu 50% do N em cobertura, mas não foi inoculado; e T100, que recebeu a dose completa, ou seja, 60 kg ha⁻¹ de N em cobertura (IPA, 2008).

Adicionalmente, com exceção do TA, todos os tratamentos receberam N em fundação (30 kg ha⁻¹ de N) (IPA, 2008). A adubação nitrogenada em cobertura foi realizada aos 20 dias após a emergência (DAE), quando as plantas apresentaram seis folhas completamente expandidas (V6). Todos os tratamentos foram adubados com 80 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 60 kg ha⁻¹ de K₂O em fundação (IPA, 2008), fornecidos como superfosfato triplo e cloreto de potássio, respectivamente.

As estirpes locais utilizadas neste experimento (BAC, PSE e STE), pertencem à coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM) da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE). A escolha por estas bactérias foi baseada no desempenho apresentado em avaliação in vitro, como: capacidade de crescer em meio livre de fonte nitrogenada; produção do AIA; molécula *quorum sensing*; e solubilização de fosfato inorgânico (LIMA et al., 2018).

Para o tratamento AZO, utilizou-se um inoculante à base das cepas Ab-V5 e Ab-V6 de *A. brasilense*, pertencentes à coleção de bactérias diazotróficas e promotoras de crescimento de plantas da Embrapa Soja. Essas linhagens derivaram dos estudos de Hungria et al. (2010) e são consideradas eficientes na promoção do crescimento de milho e trigo, devido a capacidade de sintetizar hormônios vegetais, aumentar o crescimento radicular e a absorção de nutrientes. No Brasil, ambas as linhagens são utilizadas na produção comercial de inoculantes para uso em milho (FUKAMI et al., 2016).

As linhagens bacterianas foram repicadas pelo método descrito por Kifle e Laing (2016), com adaptações. As estirpes foram multiplicadas em placas de petri contendo meio TSA (Trypcase Soy Agar) por 48 h a 28 ± 2 °C sob agitação constante (15,70 rad.s⁻¹). Em seguida, as colônias isoladas foram diluídas no próprio meio (1:50) com a adição de glicerol a 2%. O número de células foi ajustado para 10⁸ UFC MI⁻¹. As sementes de milho (500 g) foram colocadas em saco plástico e, posteriormente, foram adicionados 150 mL da suspensão

bacteriana ($0,3 \text{ mL g}^{-1}$ de sementes). A bolsa foi agitada durante 2 min até atingir uniformidade, posteriormente, as sementes foram secas ao ar e semeadas.

3.4. Variáveis analisadas e métodos aplicados

Durante o ensaio, foram realizadas avaliações em seis períodos: 15, 20, 36, 50, 70 e 90 dias após a emergência (DAE), correspondentes aos estádios fenológicos da cultura milho V3, V6, V8, V12, VT e R5, respectivamente. Para identificação das fases em campo, adotou-se a escala proposta por Ritchie, Hanway e Benson (1993) (Figura 4).

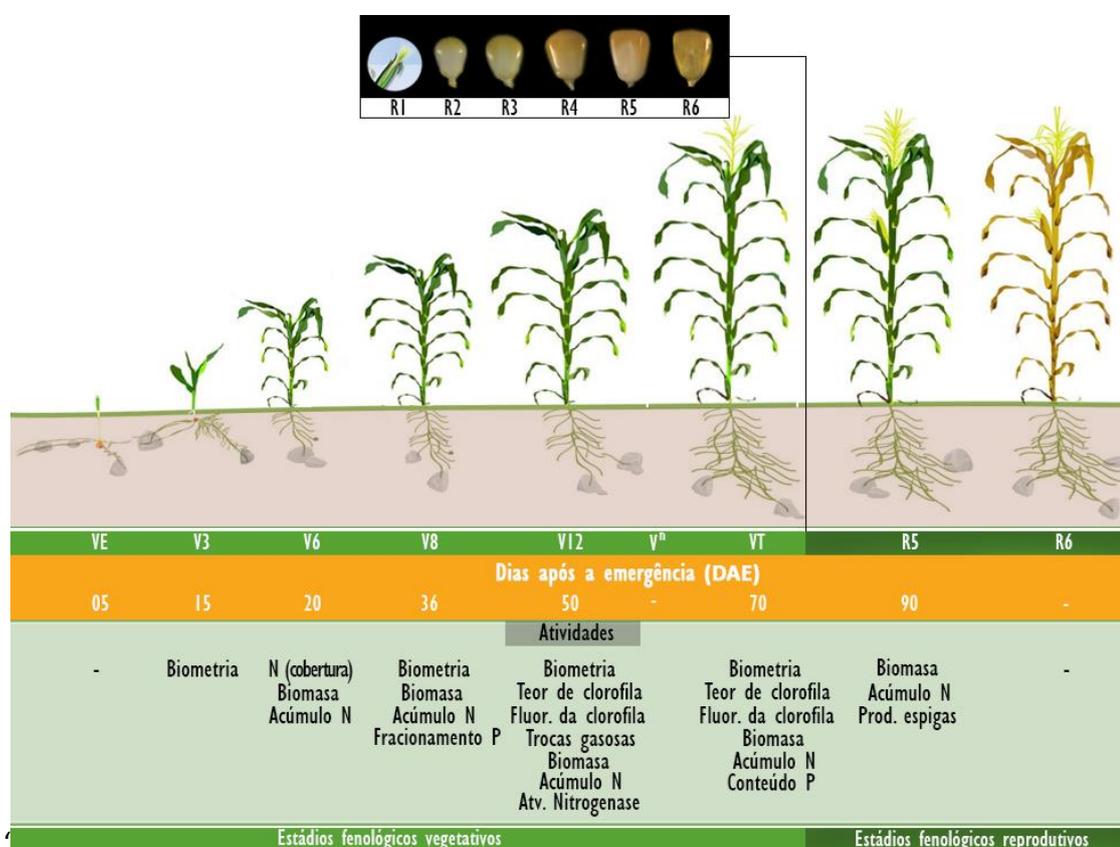


Figura 4. Estádios fenológicos observados em campo e atividades realizadas durante o ensaio. Adaptado de Pioneer (2019)

3.4.1. Crescimento das plantas de milho

3.4.1.1. Altura de planta e diâmetro do colmo

O monitoramento para estas variáveis foi realizado aos 15, 36, 50 e 70 DAE de acordo com os respectivos estádios fenológicos da cultura: V3, V8, V12 e VT.

Altura de planta do milho foi determinada com uso de trena, medindo-se a altura entre o nível do solo até a base da inserção da última folha completamente expandida, em quatro

plantas sorteadas ao acaso na área útil da parcela. De forma semelhante, o diâmetro do colmo foi obtido pela média de duas medições no primeiro entrenó acima do colo da planta, em quatro plantas, utilizando-se um paquímetro digital (BARBOSA et al., 2013).

3.4.1.2. Área foliar e índice de área foliar

Estas medições foram tomadas aos 70 DAE, no estágio fenológico de pendoamento (VT). A área foliar foi tomada a partir do método proposto por Tollenaar (1992). Foram medidos o comprimento (C) e a maior largura (L) de todas as folhas fotossinteticamente ativas. Considerou-se neste estudo, àquelas folhas que apresentassem ao menos 50% de sua área foliar verde, como indicado por Borrás et al. (2003). As plantas utilizadas, foram as mesmas em que se avaliou altura e diâmetro do colmo neste período.

Deste modo, estimou-se a área foliar por planta (A), expressa em cm², aplicando-se a expressão: $A=C \times L \times 0,75$, em que o valor 0,75 é um coeficiente de correção para plantas de milho, uma vez que, as folhas não apresentam área retangular. A área foliar por planta foi obtida por meio do somatório da área de todas as folhas fotossinteticamente ativas. O índice de área foliar, por sua vez, foi obtido pela relação entre a área foliar do dossel e o espaço ocupado pela planta em um metro quadrado.

3.4.2. Fisiologia das plantas de milho

3.4.2.1. Índice Relativo de Clorofila (ICR)

O índice relativo de clorofila (ICR) foi obtido a partir da média de três leituras com clorofilômetro, modelo CFL1030, nas porções basal, média e apical em folhas de quatro plantas por parcela. Na medição realizada aos 50 DAE, utilizou-se como referência, a última folha completamente expandida do milho. Aos 70 DAE, as medições foram realizadas na folha oposta e abaixo do ponto de inserção da espiga, considerada a folha de referência para avaliações fisiológicas na cultura do milho.

3.4.2.2. Fluorescência da clorofila *a*

Aos 50 e 70 DAE, foram realizadas medições de fluorescência da clorofila com fluorômetro portátil (FluorPen FP100 PSI), adotando-se os mesmos critérios utilizados na amostragem para medição do teor de clorofila. As medições foram realizadas no período de

08:00 às 11:00 h da manhã. As folhas foram pré-adaptadas ao escuro com auxílio de pinças adaptadas, durante 30 minutos. Após esse período, determinou-se os seguintes parâmetros: fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), fluorescência máxima variável (F_v) e o rendimento quântico máximo da fotossíntese no fotossistema II (PSII) (F_v/F_m).

3.4.2.3. Trocas gasosas

As estimativas para trocas gasosas foram realizadas aos 50 DAE, mediante o uso do analisador de gás à infravermelho (Infra Red Gas Analyser – IRGA) modelo 6400XT LICOR. As medições foram realizadas nas mesmas folhas em que foi estimada a fluorescência da clorofila *a*. Foram obtidas as leituras para: taxa de fotossíntese líquida, condutância estomática, transpiração, concentração interna de CO_2 e eficiência do uso da água.

3.4.3. Promoção do crescimento vegetal

3.4.3.1. Biomassa seca da parte aérea

As avaliações foram realizadas aos 20, 36, 50, 70 e 90 DAE, de acordo com os estádios fenológicos V6, V8, V12, VT e R5, respectivamente.

Para a determinação da biomassa seca da parte aérea, coletou-se quatro plantas por parcela por meio de um corte na base do colmo, rente ao solo. As plantas foram pesadas e, posteriormente, trituradas em forrageira. Do material triturado, retirou-se uma subamostra, que foi colocada em saco de papel e pesada para obtenção da matéria fresca. Em seguida, estas amostras foram acondicionadas em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C, onde permaneceram até atingirem peso constante. A partir da matéria seca obtida e o espaçamento utilizado, obteve-se a quantidade total de biomassa seca acumulada em $kg\ ha^{-1}$

3.4.3.2. Acúmulo de N na parte aérea

O teor de N foi determinado em todas as amostras coletadas para a biomassa seca da parte aérea. Após a obtenção da matéria seca, o material foi triturado em moinho, quando coletou-se 0,1 g para digestão em solução sulfúrica. A determinação do N foi realizada pelo método de Kjeldahl (EMBRAPA, 2009). O acúmulo de N na parte aérea foi então estimado pela multiplicação entre o teor de N e os valores obtidos para matéria seca, sendo expresso em $kg\ ha^{-1}$.

3.4.3.3. Atividade da nitrogenase

A atividade da enzima nitrogenase (AN) foi estimada aos 50 DAE, por meio da técnica de redução do acetileno, adaptando-se a metodologia descrita por Hardy et al. (1968). Foram realizadas amostras compostas por dez folhas, tomando-se em consideração a última folha completamente expandida pela planta; e uma porção de três raízes, em cada parcela.

As amostras compostas de raiz e folha foram colocadas, separadamente, em frascos de vidro de 2000 mL, hermeticamente fechados. Em seguida, para não alterar a pressão interna destes frascos, retirou-se 200 mL de ar e introduziu-se 200 mL de acetileno, deixando-os incubados por uma hora. Após este período, coletou-se 9 mL da atmosfera dos recipientes para serem armazenados em frasco de vacuneteiner com o mesmo volume.

A determinação da redução do acetileno e produção de etileno foi realizada em cromatógrafo a gás com coluna PORAPAKN empacotada, detector de ionização de chama, com temperaturas de forno, de injetor e de detector de, respectivamente 70; 130; e 150 °C e vazões de N₂ (gás de arraste), H₂ e O₂ de, respectivamente 30; 30; e 300 mL min⁻¹.

A estimativa da AN foi obtida, de acordo com Boddey et al. (2007), pela seguinte equação:

$$AN = \frac{(E_2 - E_1) \cdot V \cdot K_E}{244,50 \cdot S_E \cdot t \cdot m}$$

Em que:

AN = atividade da nitrogenase ($\mu\text{mol de C}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$);

E₁ = área do pico de etileno na amostra inicial;

E₂ = área do pico de etileno na amostra final;

V = volume do frasco (mL);

K_E = concentração do pico de etileno no padrão (mg L⁻¹);

S_E = área do pico de etileno no padrão;

t = tempo de incubação (h);

m = massa do tecido vegetal (g).

3.4.3.4. Solubilização de fosfato

Para esta análise, a amostragem foi realizada aos 36 DAE, quando as plantas se encontravam no estágio V8 e as raízes, em tese, apresentavam boa formação e distribuição no solo. Deste modo, coletou-se três porções de raízes de plantas bem desenvolvidas, retirando-se cuidadosamente o excesso de solo por meio de leves movimentos (OLIVEIRA et al., 2017). Para a análise, considerou-se o solo rizosférico, firmemente aderido às raízes em uma zona de até 3 mm (KOLB; MARTIN, 1988), destorroado e peneirado em malha de 2 mm.

As pesquisas para triagem de bactérias potenciais solubilizadoras de fosfato, geralmente, são realizadas em condições *in vitro*. As bactérias são incubadas em meios de cultivo (e. g. PKV, NBRIP, SECP) contendo amostras de solo e fontes pouco solúveis de P (e. g. fosfato de rocha; fosfato tricálcico; fosfato de ferro ou fosfato de alumínio). Deste modo, a solubilização do P é baseada em detecções visuais de zonas claras (geralmente halos amarelados, dependendo do corante indicador utilizado), ao redor das colônias, indicando a produção de ácidos orgânicos solubilizadores de P (PANDE et al., 2017; JOE et al., 2018).

Neste estudo, entretanto, a solubilização do P em campo, foi determinada através da análise de fracionamento do P, descrita por Chang e Jackson (1957), incluídas as adaptações de Souza Júnior et al. (2012). Este método possibilitou a quantificação do P-Ca, e por dedução, foi possível dimensionar a contribuição das BPCV, pela redução dos teores de fosfato precipitado com Ca no solo rizosférico.

3.4.3.5. Conteúdo de P na parte aérea

O teor de P foi determinado nas amostras coletadas para biomassa seca da parte aérea aos 70 DAE (VT). Após a secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C até a obtenção de peso constante, o material foi triturado em amostras com massa de 0,25 g e pesado para, posteriormente, ser decomposto via digestão sulfúrica e o P determinado por colorimetria (EMBRAPA, 2009). O acúmulo de P na parte aérea foi então estimado pela multiplicação entre o teor de P e a matéria seca, sendo expresso em kg ha⁻¹.

3.4.4. Produtividade de espigas no ponto de ensilagem

Aos 90 DAE (R5), com as plantas no ponto de ensilagem, foram colhidas 10 espigas em cada parcela. Posteriormente, este material foi pesado com e sem palha, para a obtenção da produtividade de espigas em kg ha⁻¹.

3.4.5. Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e homocedasticidade de Cochran quando, posteriormente, realizou-se a análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$), em função dos tratamentos inoculados e das testemunhas. Nas variáveis em que os efeitos principais e/ou interação foram significativos, optou-se pela aplicação do teste de médias de Scott Knott ($p < 0,05$) devido ao número de tratamentos. Foram realizadas regressões nas variáveis em função do tempo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Crescimento das plantas de milho

4.1.1. Altura da planta e diâmetro do colmo

Os tratamentos não causaram alteração de diâmetro e altura durante o período de avaliação. No entanto, o crescimento vegetal ajustou-se a modelo quadrático, com as plantas atingindo 180 cm de altura e 3 cm de diâmetro máximo do colmo aos 70 e 50 DAE, respectivamente (Figura 5).

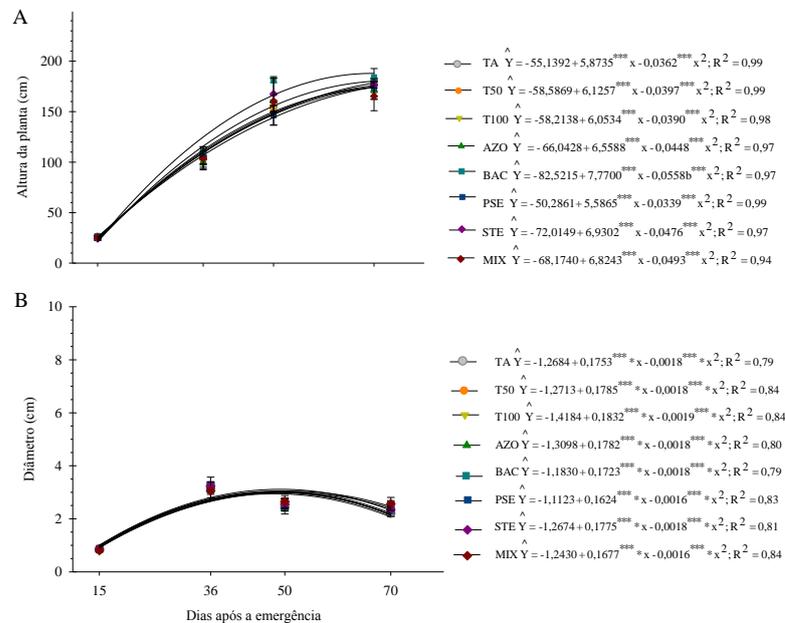


Figura 5. Altura de planta (A) e diâmetro do colmo (B) durante o ciclo e nos diferentes tratamentos com a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus* sp.; **PSE** - *Pseudomonas* spp.; **STE** - *Stenotrophomonas* spp.; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

O desempenho apresentado pela testemunha absoluta (TA) presume a existência de bactérias nativas do solo, capazes de promover o crescimento vegetal. Adicionalmente, fatores inerentes ao ensaio e que foram adotados em todos os tratamentos, como irrigação e adubação com P e K, podem ter estimulado a atuação desses microrganismos no ambiente em estudo (TANG et al., 2017).

O comportamento de altura e diâmetro deste trabalho, tem sido encontrado por outros autores. Kifle e Laing (2016), em um experimento de campo avaliando o efeito de cinco bactérias diazotróficas sobre um genótipo de milho [*Bacillus megaterium* (V16), *Pseudomonas* sp. (StB5), *Burkholderia ambifaria* (V9), *Enterobacter cloacae* (L1), e *Pantoea ananatis* (LB5)] em conjunto com a fertilização nitrogenada, não observaram influência dos tratamentos sobre a altura das plantas. Os autores associaram este resultado à elevada competição entre os tratamentos inoculados e os microrganismos nativos daquele ambiente.

Cunha et al. (2014), avaliando em campo o efeito da inoculação com *A. brasilense* e cinco doses de N em cobertura (0, 25, 50, 75 e 100% da dose recomendada), não observaram diferença na altura da planta e diâmetro do colmo de um híbrido de milho. Resultados semelhantes também foram obtidos por Marini et al. (2015), em condições de campo, analisando o efeito de *A. brasilense* associado à diferentes níveis de N (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹), em dois genótipos de milho.

Nas condições do presente estudo, a ausência de efeito da inoculação de bactérias e a adubação nitrogenada sobre a altura da planta e diâmetro do colmo, pode ser atribuída à elevada herdabilidade genética destes caracteres morfológicos (ALBUQUERQUE et al., 2013; PEIFFER et al., 2014). Assumindo que a única variação no ensaio foi a fertilização nitrogenada e que as bactérias nativas realizaram FBN; supõe-se que, características genéticas limitaram a capacidade de resposta das plantas, nestes parâmetros, especificamente.

4.1.2. Área foliar e índice de área foliar

Os tratamentos T50, BAC e STE promoveram os maiores incrementos em área foliar (Figuras 6A e B). Comparados ao T100, as plantas que receberam os inóculos STE e BAC apresentaram área foliar 10%, 50% e 13,44% superiores, respectivamente (Figura 6A).

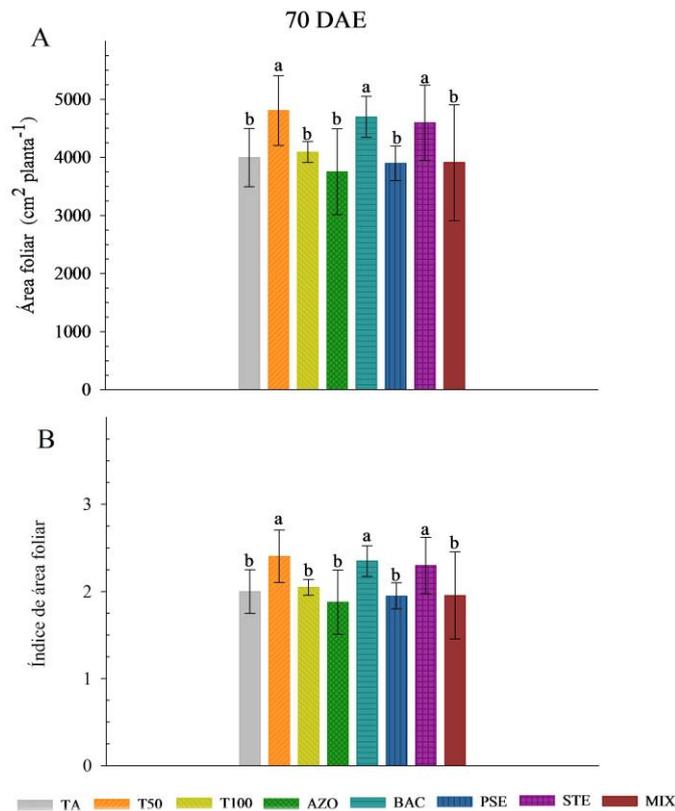


Figura 6. Área foliar (A) e índice de área foliar (B) em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus sp.*; **PSE** - *Pseudomonas spp.*; **STE** - *Stenotrophomonas spp.*; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

Ainda não existe um consenso sobre como a atividade bacteriana de promoção de crescimento vegetal é afetada pela fertilização nitrogenada. No entanto, diversos estudos têm demonstrado que a aplicação excessiva de N mineral resulta em impactos na estrutura da comunidade bacteriana (REARDON; GOLLANY; WUEST, 2014); reduzindo consideravelmente as taxas de FBN (FAN et al., 2019). Por outro lado, muitos autores relataram efeitos positivos da fertilização nitrogenada, em comunidades de diazotróficos associativos a gramíneas como, sorgo, cana-de-açúcar e milho (RODRÍGUEZ-BLANCO; SICARDI; FRIONI, 2015; YEOH et al., 2015; MAREQUE et al., 2018). Nesse contexto, Galindo et al. (2019) destacou a importância de investigar os efeitos dessa interação, no sentido de se definir a quantidade ótima de N mineral aplicado em combinação com BPCV, para obtenção do rendimento máximo do milho.

A princípio, os ganhos em área foliar apresentados por BAC e STE, sugerem que, nas condições desta pesquisa, 50% da dose recomendada de N em cobertura, seja considerada suficiente para que estas BPCV atuem proporcionando bons rendimentos à cultura. Isso porque,

o efeito positivo das bactérias sobre a área foliar foi observado aos 70 DAE, quando as plantas expressavam todo seu potencial vegetativo, em fase de pendoamento (VT) (Figura 4). O desempenho das BPCV nativas impulsionadas pela aplicação de 50% da dose de N em cobertura no T50 reforça esta suposição.

O efeito da inoculação foi reproduzido no IAF, uma vez que este é obtido pela relação entre a área projetada pelo dossel e a área do solo ocupada pelas plantas. Sabe-se que em genótipos de milho, a fotossíntese é beneficiada à medida que o IAF se aproxima de 4 (HUANG et al., 2017); e que esse valor varia constantemente, sobretudo, em função da densidade de plantas (SANGOI et al., 2011; PORTES; MELO, 2014). Neste contexto, o IAF médio obtido por BAC e STE (2,32) indica que, no arranjo espacial adotado (1,0 m x 0,2 m, com 50.000 plantas ha⁻¹), a inoculação com estas bactérias pode ter contribuído de forma mais eficiente para o processo de interceptação de luz e assimilação de C pelas plantas.

Müller et al. (2015), em um experimento de campo, investigando o efeito de diferentes métodos de inoculação de *A. brasilense* no milho (controle; tratamento de sementes e inoculação no sulco de plantio) combinados com distintos níveis de N (0, 75, 150, 225 e 300 kg ha⁻¹), observaram que independentemente do método de aplicação, a inoculação promoveu efeitos significativos no IAF. Segundo os autores, o IAF máximo promovido pela estirpe, variou entre 5,4-5,6 com doses de 197 e 244 kg ha⁻¹ de N, respectivamente, em uma população de 67.000 plantas ha⁻¹.

Gholami et al. (2012) em um experimento de campo, avaliando o efeito de diferentes linhagens de *Azospirillum* spp. e *Azotobacter* spp. + fertilização com 300 kg ha⁻¹ de N no crescimento do milho, obtiveram incremento de 11% no IAF em relação ao controle não inoculado. O IAF obtido por esses autores variou entre 1,90-2,45, em uma população de 75.000 plantas ha⁻¹.

4.2. Fisiologia das plantas de milho

4.2.1. Índice relativo de clorofila (IRC)

O IRC nas folhas do milho mostrou um efeito significativo dos tratamentos apenas aos 70 DAE (Figura 7B). A clorofila *a* foi superior nas testemunhas TA e T100 e nos tratamentos inoculados AZO e MIX. A clorofila total variou entre 45 e 52 unidades e foi superior em TA, T100, AZO, BAC e MIX (Figura 7B).

A análise dos resultados de área foliar e índice relativo de clorofila em conjunto (Figuras 6 e 7), mostrou que, apenas os tratamentos inoculados com BAC conseguiram traduzir

superioridade em área foliar no quantitativo de clorofila total. Este resultado sugere que os mecanismos de promoção de crescimento das BPCV, atuam de forma, independente e diversificada, sobre características específicas das plantas. Sharma et al. (2003), por exemplo, observaram que linhagens de *Pseudomonas sp.* foram essenciais para o aumento da síntese de clorofila, ao liberarem sideróforos transportadores de Fe para as células vegetais de feijão-mungo [*Vigna radiata (L.) Wilczek*].

Observando, exclusivamente, os resultados para clorofila, constatou-se que o desempenho de AZO apenas reforça os diversos estudos que demonstraram seus efeitos positivos na promoção do crescimento de milho (COSTA et al., 2015; FUKAMI et al., 2017; GALINDO et al., 2019). Quanto ao desempenho de TA, novamente supõe-se, que se deva às condições favoráveis, encontradas pelas bactérias nativas para realização da FBN, mineralização do N orgânico e/ou síntese de substâncias bioestimulantes. Quanto ao MIX, os resultados revelaram que a co-inoculação foi sinérgica na produção de pigmentos fotossintéticos, possivelmente, devido à uma atuação efetiva de BAC nesse tratamento.

Neste sentido, os resultados obtidos por BAC até aqui são interessantes, porque apontam para a versatilidade de processos fisiológicos, pelos quais essas bactérias podem atuar de forma benéfica à cultura.

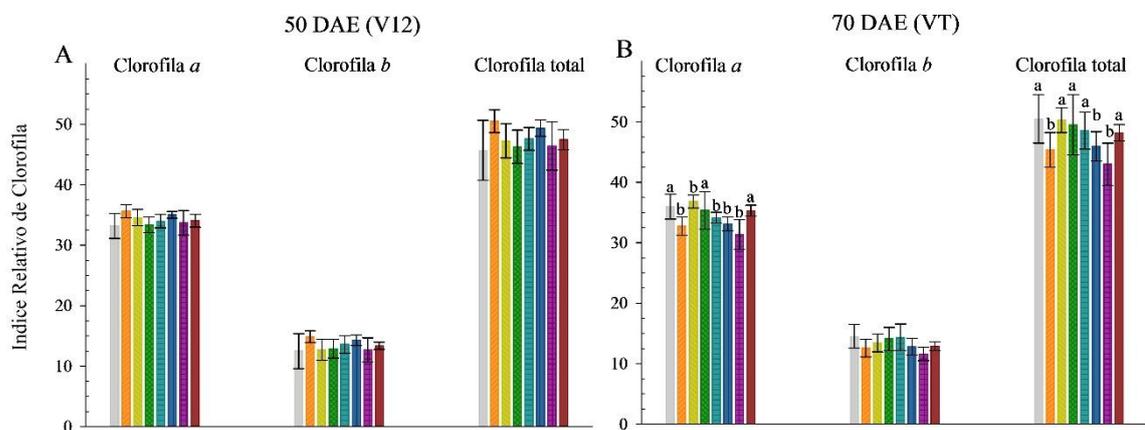


Figura 7. Índice relativo de clorofila em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. Observações aos 50 DAE (A) e 70 DAE (B). **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus sp.*; **PSE** - *Pseudomonas spp.*; **STE** - *Stenotrophomonas spp.*; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

Os resultados dessa pesquisa são corroborados pelos de Lima et al. (2011) que, em condições de campo, investigaram os efeitos da interação entre *B. subtilis* e adubação

nitrogenada na produtividade de um híbrido de milho. Foram testadas doses de N (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹ de N) combinadas ou não com a inoculação. Os autores demonstraram que as BPCV aumentaram os teores de clorofila total. Os autores atribuíram esse resultado a FBN, uma vez que, os resultados foram igualmente reproduzidos no acúmulo de N da parte aérea.

Costa et al. (2015), em um estudo de campo, verificaram o efeito da inoculação de *A. brasilense* e a adição de doses de N em cobertura (0, 25, 50, 75 e 100%) sobre as características de crescimento e produtividade de um híbrido de milho. Os autores observaram um acréscimo de 4% no teor de clorofila total para o tratamento inoculado que recebeu 75% da dose recomendada de N em cobertura (50 kg ha⁻¹ de N).

4.2.2. Fluorescência da clorofila *a*

Apesar dos resultados obtidos para área foliar e teor relativo de clorofila (Figuras 6 e 7), nenhum tratamento influenciou a fluorescência da clorofila *a.*, com exceção de STE aos 50 DAE, quando as plantas apresentaram uma redução de 14,55% na relação Fv/Fm (Figura 8). Posteriormente, na avaliação realizada aos 70 DAE, as plantas se recuperaram desta condição (Figura 8D).

Estudos com uma extensa variedade de plantas, em condições diversificadas de crescimento, demonstraram que a relação Fv/Fm pode ser considerada um indicador do rendimento quântico máximo da fotossíntese no fotossistema II (BJÖRKMAN; DEMMIG, 1987); Outros estudos observaram também, que plantas com o aparelho fotossintético intacto, apresentavam valores de Fv/Fm variando entre 0,75-0,85 (BOLHAR-NORDENKAMPF et al., 1989).

Nesse estudo, o valor médio dos tratamentos para a Fv/Fm foi 0,71 nas duas épocas observadas, exceto no STE (0,62 – aos 70 DAE). Contudo, estes resultados, isoladamente, não indicam a ocorrência de uma condição foto-inibitória ao milho durante o ensaio. Como destacado por Murchie e Lawson (2013), o fotossistema II é altamente sensível a estímulos ambientais, principalmente a variações pontuais na intensidade de luz, sendo relativamente comum, que ocorram valores reduzidos no Fv/Fm, sem qualquer efeito na fotossíntese.

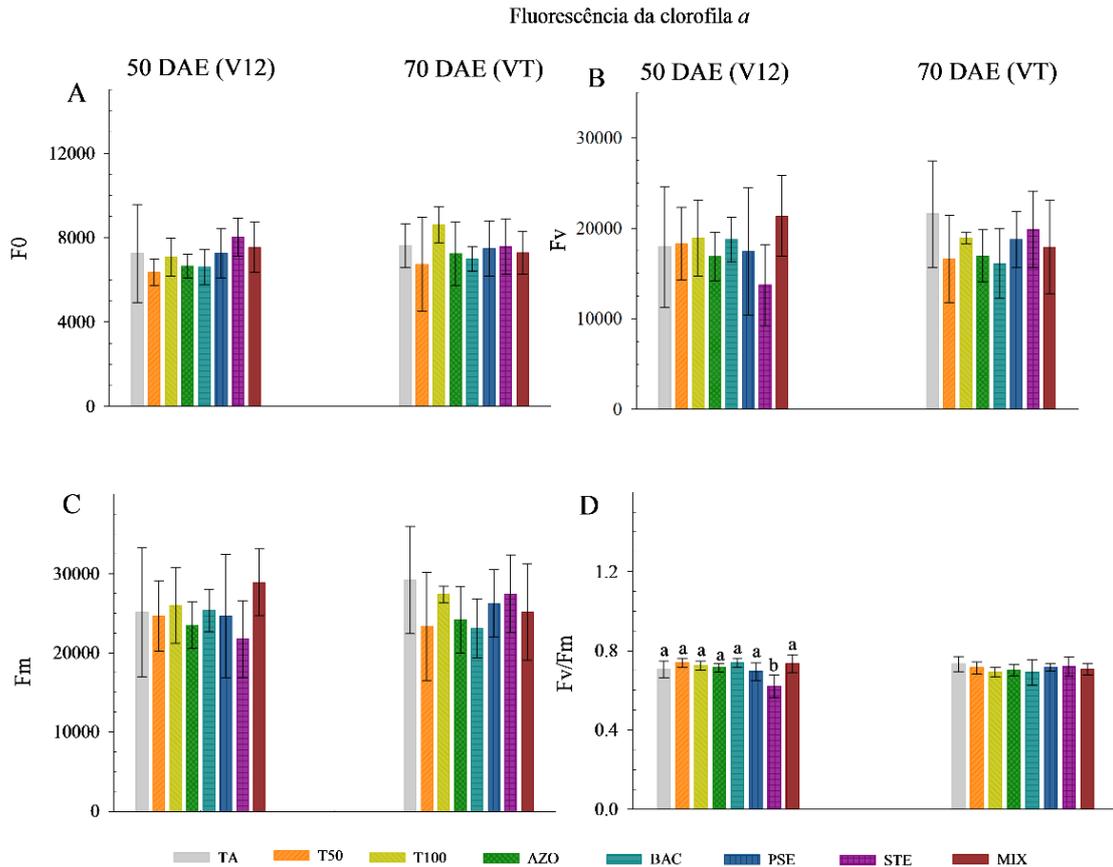


Figura 8. Parâmetros da emissão da fluorescência da clorofila em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. Observações em F0 aos 50 e 70 DAE (A); Fv aos 50 e 70 DAE (B); Fm aos 50 e 70 DAE (C) e Fv/Fm aos 50 e 70 DAE (D). **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus* sp.; **PSE** - *Pseudomonas* spp.; **STE** - *Stenotrophomonas* spp.; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

Naveed et al. (2013), avaliando o potencial da estirpe FD17 (*Enterobacter* sp.) na promoção do crescimento de dois cultivares de milho, em um ensaio conduzido em casa-de-vegetação, observaram que a Fv/Fm foi 8% superior nos tratamentos inoculados, variando de 0,69-0,79 entre todos tratamentos. Os autores presumiram que, esse resultado ocorreu devido à uma combinação de ações da bactéria em conjunto com as plantas, como: produção de AIA, ACC deaminase, sideróforos, e fornecimento de nutrientes.

Embora nesse estudo, o efeito dos tratamentos na fluorescência da clorofila *a* tenha sido mínimo, os resultados, até aqui, evidenciam que a inoculação não provocou alterações no fotossistema II, que pudessem comprometer o desenvolvimento da cultura em campo. Por outro lado, torna-se válido ressaltar que, ainda são escassos os estudos que possam fomentar uma discussão apropriada, a respeito da ação direta das BPCV neste parâmetro específico.

4.2.3. Trocas gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas das plantas de milho não foram afetados por nenhum tratamento (Figura 9). Um resultado, de certa forma esperado, visto que, uma alteração significativa destes parâmetros, poderia ser refletida nos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, dada a relação complementar entre esses processos.

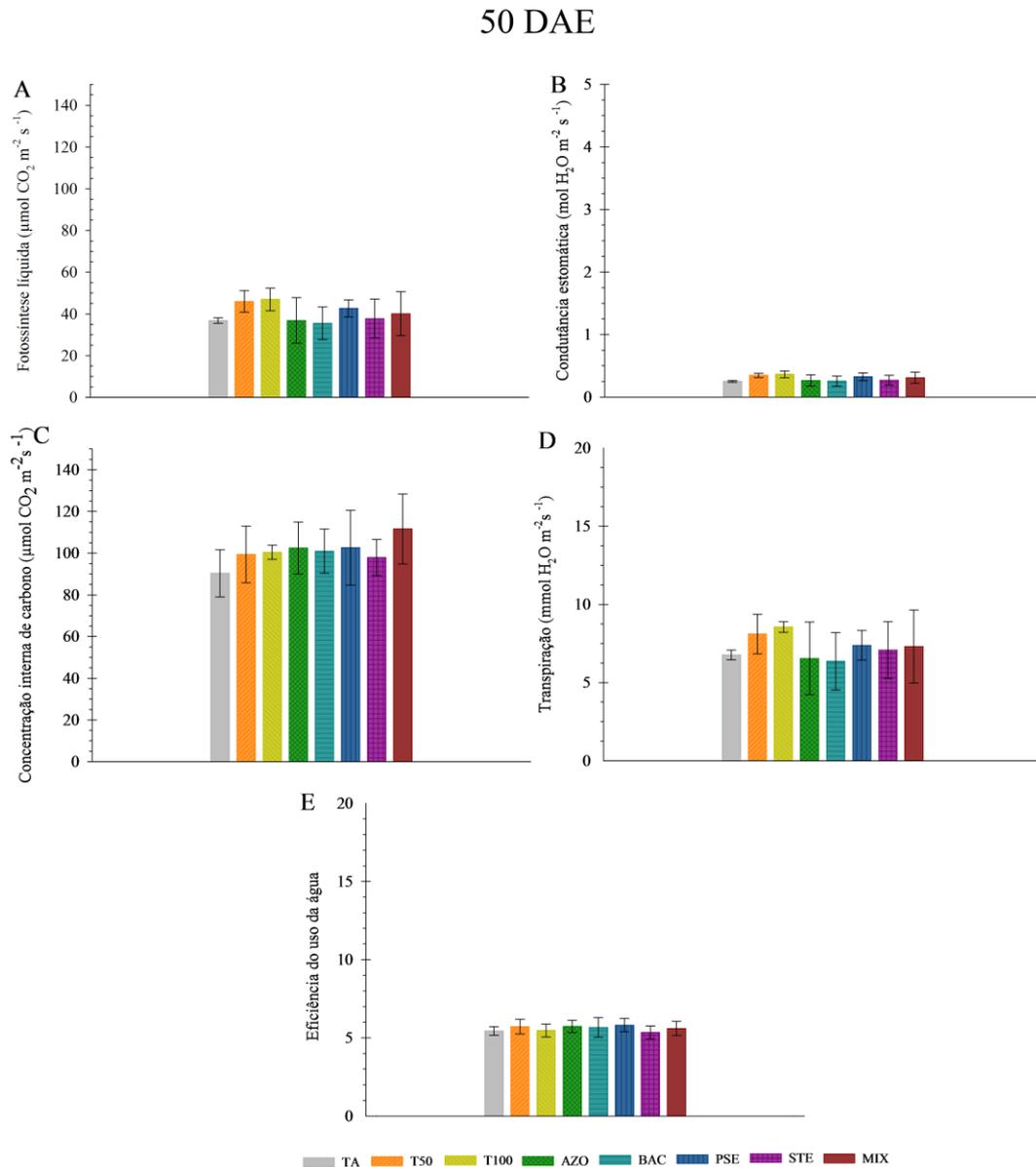


Figura 9. Parâmetros de trocas gasosas em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. Observações em F0 aos 50 e 70 DAE (A); Fv aos 50 e 70 DAE (B); Fm aos 50 e 70 DAE (C) e Fv/Fm aos 50 e 70 DAE (D). **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus sp.*; **PSE** - *Pseudomonas spp.*; **STE** - *Stenotrophomonas spp.*; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

O efeito das BPCV no comportamento das trocas gasosas tem sido frequentemente observado em culturas em situações de estresse abiótico. Lima et al. (2019), estudando o efeito da inoculação de linhagens de *B. subtilis* em plantas de milho sob condição de estresse hídrico, verificaram que as bactérias reduziram as taxas de transpiração e condução estomática. Esses resultados se correlacionaram com incrementos no teor relativo de água das folhas e na eficiência do uso da água pela cultura.

Barnawal et al. (2017), avaliando o desempenho de *B. subtilis* em plantas de trigo submetidas ao estresse hídrico, observaram que a inoculação aumentou as taxas de fotossíntese líquida e reduziu os valores de condutância estomática. De acordo com os autores, as BPCV restauram os parâmetros fisiológicos para uma condição ideal, protegendo as plantas de condições adversas.

Dentre os possíveis mecanismos pelos quais as bactérias atuam no processo de trocas gasosas das plantas estão a modulação dos níveis de fitormônios, como o ácido abscísico (ABA), responsável pela regulação dos estômatos (VURUKONDA et al., 2016). A síntese da enzima ACC desaminase, que regula a atividade do etileno em condições de estresse (BARNAWAL et al., 2017). E a síntese de enzimas antioxidantes, que regulam o estresse oxidativo, prejudicial à realização da fotossíntese (GUPTA et al., 2019).

Neste sentido, os resultados obtidos para trocas gasosas nesse estudo podem ser justificados pela homogeneidade do ambiente durante o ensaio (sobretudo, quanto à disponibilidade hídrica), determinando o comportamento dos tratamentos. Como não ocorreu um evento extremamente estressante, presume-se, que as bactérias não foram estimuladas pelas plantas a expressarem, efetivamente, seus mecanismos potenciais de regulação das trocas gasosas.

4.3. Promoção do crescimento vegetal

4.3.1. Biomassa seca da parte aérea

Embora houvesse a expectativa para a obtenção de um modelo sigmoidal descrevendo o acúmulo de biomassa seca na parte aérea, ao menos durante o período avaliado, este processo se comportou linearmente. Diferenças entre os tratamentos só foram observadas aos 20 e 36 DAE (Figura 10).

Aos 20 DAE, o desempenho dos tratamentos foi semelhante, exceto para o MIX, TA e T50, onde a biomassa acumulada foi reduzida em 10,22; 16,75 e 22,03%, respectivamente (Figura 10B). Aos 36 DAE, dentre os tratamentos inoculados, apenas PSE e BAC mantiveram

um acúmulo constante em relação ao período anterior. Comparados com as outras bactérias adicionadas e a co-inoculação, estes tratamentos atingiram picos de acúmulo 17 e 19% superiores, respectivamente (Figura 10B).

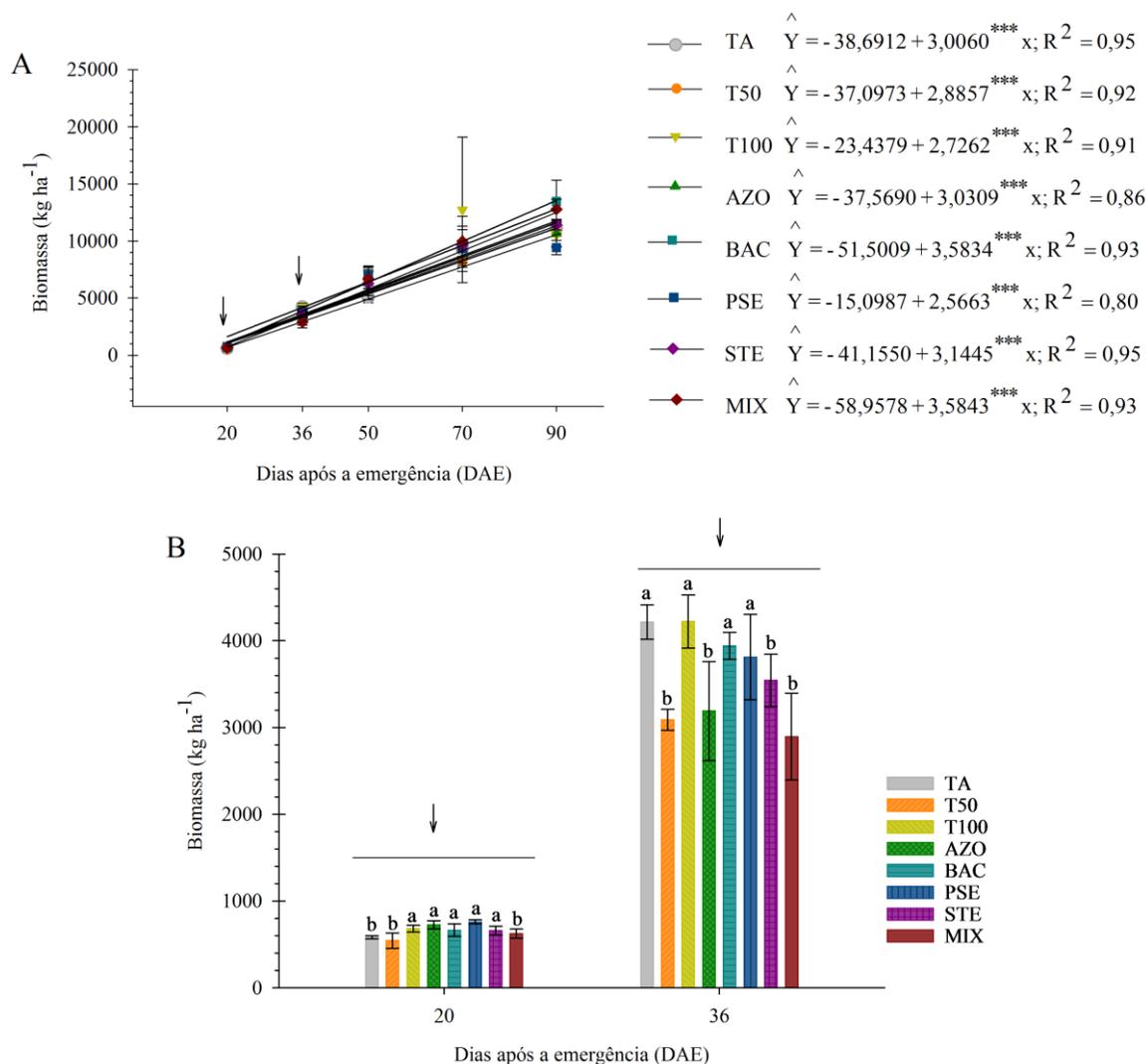


Figura 10. Biomassa na parte aérea em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus* sp.; **PSE** - *Pseudomonas* spp.; **STE** - *Stenotrophomonas* spp.; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

Em termos gerais, aos 36 DAE, os tratamentos TA, BAC e PSE apresentaram desempenho semelhante, não diferindo do T100. Os resultados do TA refletem uma atuação positiva das bactérias nativas nesse importante componente de produção. Ao final da avaliação (90 DAE), as plantas apresentaram aproximadamente, 11.300 kg ha⁻¹ de biomassa acumulada na parte aérea.

Apesar das diferenças no acúmulo de biomassa não se evidenciarem por todo o período de avaliação, os resultados apresentados pelas bactérias, especialmente BAC e PSE, são

considerados satisfatórios. Isto porque, as plantas inoculadas com essas BPCV obtiveram um rendimento equivalente ao T100.

Resultados diferentes aos observados neste experimento foram obtidos por Souza et al. (2019). Em um estudo de campo, os autores investigaram a influência da fertilização nitrogenada, combinada à inoculação de *A. brasilense*, no rendimento de um híbrido de milho em um Latossolo Vermelho distrófico cultivado com culturas anuais há mais de 28 anos. Foi relatado que a inoculação e 30 kg ha⁻¹ de N na semeadura + duas aplicações de 75 kg ha⁻¹ em cobertura (180 kg ha⁻¹ no total), proporcionaram os melhores rendimentos de biomassa acumulada na parte aérea (11.856 kg ha⁻¹). Em termos de comparação, nesse estudo os tratamentos inoculados apresentaram um acúmulo médio de biomassa de 11.546 kg ha⁻¹ aos 90 DAE (R5). A adubação nestes tratamentos, entretanto, foi de 30 kg ha⁻¹ de N na semeadura + 30 kg ha⁻¹ em cobertura (totalizando 60 kg ha⁻¹ de N fornecidos à cultura).

Dartora et al. (2016), em um experimento de campo avaliando a resposta do milho à inoculação de diferentes linhagens (*A. brasilense*; *Azospirillum* sp.; *Enhydrobacter* sp. e *Rhizobium* sp.) combinada à duas formas de adubação nitrogenada (controle sem N e sem inoculação; 30 kg ha⁻¹ de N na semeadura; 30 kg ha⁻¹ na semeadura + 130 kg ha⁻¹ em cobertura) em dois ciclos de cultivo (2012/2013 – 2013/2014), não observaram efeitos da inoculação (em 2012/2013) na biomassa da parte aérea, nos estádios observados (V8 e R1). Diferentemente desse estudo, os autores não adotaram irrigação e atribuíram seus resultados à falta de condições climáticas favoráveis durante o ciclo da cultura.

4.3.2. Acúmulo de N na parte aérea

O acúmulo de N na parte aérea foi influenciado pelos tratamentos, com os dados se ajustando a modelo quadrático (Figura 11). A diferença entre os tratamentos ficou evidenciada a partir dos 50 DAE, se estendendo por todo o período avaliado.

Os resultados obtidos para o acúmulo de N na parte aérea evidenciam que dentre as BPCV, os tratamentos BAC e STE proporcionaram o melhor desempenho, uma vez que foram equivalentes ao T100 durante todo o período avaliado (Figura 11).

Calculou-se para estes tratamentos, o ponto de máximo acúmulo de N na parte aérea. BAC atingiu o pico aos 72 DAE, com 276 kg ha⁻¹ de N acumulado. No mesmo período, o milho com STE acumulou 239 kg ha⁻¹ de N. No T100, a máxima acumulação foi de 251 kg ha⁻¹ de N aos 69 DAE. Cabe ressaltar, que o milho em T100 recebeu a dose total de N recomendada para a região (90 kg ha⁻¹) e os tratamentos inoculados apenas 60 kg ha⁻¹ de N.

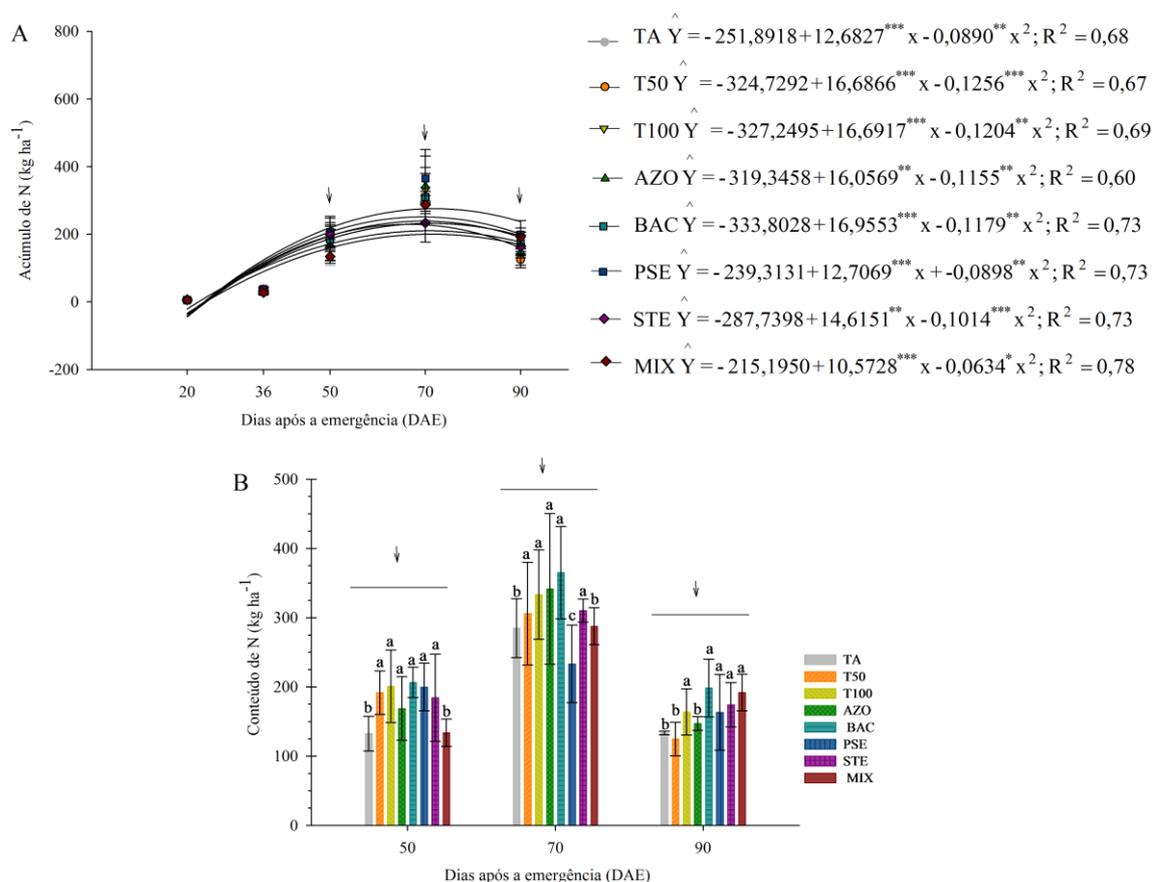


Figura 11. Acúmulo de nitrogênio na parte aérea em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus sp.*; **PSE** - *Pseudomonas spp.*; **STE** - *Stenotrophomonas spp.*; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

A partir dos resultados apresentados, pode-se inferir que a inoculação não só foi bem-sucedida, mas também, eficiente. Assumindo que, em todos os tratamentos, o aporte de N no solo foi proveniente, sobretudo, da soma da mineralização da matéria orgânica e da quantidade aplicada via fertilização (ou não aplicada em TA); presume-se, que parte do N adicional extraído pela cultura foi ofertado pela FBN. Isso significa que, nos tratamentos BAC e STE, o N fixado biologicamente contribuiu, no mínimo, para o suprimento dos 50% (30 kg ha⁻¹) não aplicados na adubação de cobertura.

A possível contribuição da FBN no milho se refletiu, sobretudo, no tratamento BAC. Resultados satisfatórios foram obtidos em relação à área foliar (Figura 6), clorofila total (Figura 7), produção de biomassa da parte aérea (Figura 10) e acúmulo de N na parte aérea (Figura 11). Esses efeitos podem ter sido determinantes para o desenvolvimento das plantas, em virtude, principalmente, do estágio fenológico em que foram observados. Como relatado, em BAC, o

pico de acúmulo de N na parte aérea foi atingido aos 72 DAE (276 kg ha⁻¹), coincidindo com o final do estágio vegetativo da cultura (VT) (Figura 5).

Foi relatado que, híbridos modernos de milho acumulam 65-70% do total de N durante o crescimento vegetativo (MUELLER; VYN, 2016), e que 45-90% do N no grão é proveniente do N armazenado até o florescimento (KUAN et al., 2016). Isso decorre da capacidade da planta em remobilizar o N presente em órgãos, principalmente folhas, e utilizá-lo no processo de formação dos grãos (MI et al., 2003). A eficiência desse processo é imprescindível à produtividade, porque induz à autofagia e senescência das folhas, reduzindo a assimilação de C no estágio reprodutivo (HAVÉ et al., 2016).

Kuan et al. (2016) investigaram o efeito de linhagens de BPCV (incluindo *Bacillus sp.*) na remobilização do N em plantas de milho, em um experimento sob condições controladas. Os autores verificaram que as bactérias fixaram N continuamente durante o estágio reprodutivo. Essa atividade retardou a senescência, mas assegurou a aquisição de N pela planta, aumentando a produtividade de espigas em torno de 31%.

Logo, nesse estudo, presume-se que BAC não só atuou na aquisição do N, mas também, contribuiu para o gerenciamento do nutriente dentro da planta. Se, por um lado, essa BPCV proporcionou um crescimento adequado, com maior produção de área foliar, clorofila e acúmulo de N. Por outro, uma provável otimização na remobilização do N, prolongando a longevidade das folhas e a assimilação de C, que pode determinar ganhos em produtividade de espigas aos 90 DAE (R5).

Galindo et al. (2019) investigaram em duas safras, o efeito de *A. brasilense* sobre componentes de produção do milho. Os autores testaram a inoculação com cinco doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹), proveniente de duas fontes, (uréia ou uréia protegida). O tratamento com a BPCV + 100 kg ha⁻¹ de N aplicados em cobertura, proporcionou maiores concentrações de N foliar, teor de clorofila, eficiência de uso do N e rendimento dos grãos. Dessa forma, esses resultados corroboram a importante atuação de bactérias promotoras de crescimento vegetal, na otimização do processo de aquisição e utilização do N pelo milho.

4.3.3. Atividade da nitrogenase

Embora tenham sido observados efeitos significativos para a maioria das variáveis de crescimento, fisiológicas e promotoras de crescimento vegetal avaliadas até então, não se constatou diferença entre os tratamentos para a AN nas folhas ou raízes do milho (Figura 12). Por outro lado, é possível presumir que houve FBN em todos os tratamentos, dada a igualdade

dos resultados. Portanto, esse método não se mostrou adequado para constatar a FBN evidenciada pelas outras variáveis avaliadas.

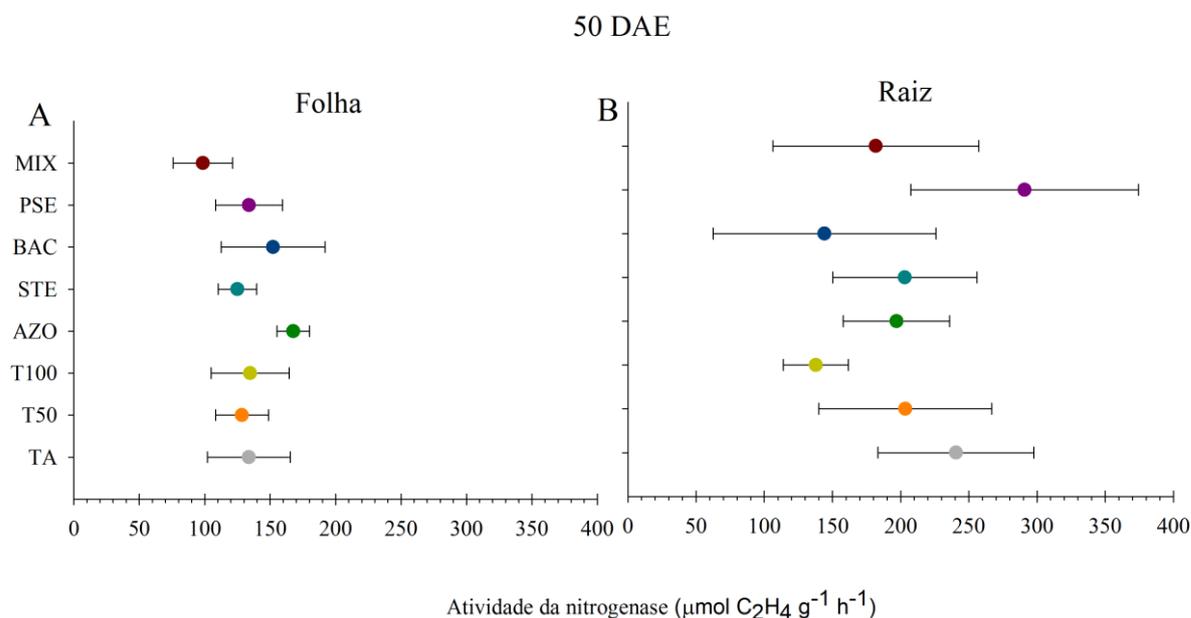


Figura 12. Atividade da Nitrogenase em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus sp.*; **PSE** - *Pseudomonas spp.*; **STE** - *Stenotrophomonas spp.*; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE.

A AN é um processo extremamente sensível a fatores ambientais como: concentração de O₂; temperatura; e umidade do solo. Por outro lado, as plantas, por meio de mecanismos fisiológicos, alteram o fluxo de exsudatos radiculares na rizosfera (CASSMAN; MUNNS, 1980). A limitação de fotoassimilados afeta, conseqüentemente, o desempenho das bactérias diazotróficas na rizosfera (BALANDREAU; MILLIER; DOMMERGUES, 1974). Esses eventos atuando de forma isolada ou conjunta, resultam em picos variáveis de AN em um período relativamente curto (SANTOS et al., 2019). Dessa forma, devido à elevada flutuação sazonal, avaliações pontuais na redução do acetileno, podem subestimar ou superestimar os resultados obtidos, quando este método é utilizado para estimação da FBN (MÅRTENSSON et al., 2009).

Adicionalmente, Santos et al. (2019), investigando o desempenho da AN em cana-de-açúcar, submetida a níveis de Mo e N no solo, encontraram um modelo de sino descrevendo o comportamento da enzima durante o ciclo da cultura. Os autores também verificaram que a adubação molíbdica estimulou a AN e esta, por sua vez, sofreu efeito antagônico do N aplicado.

Neste sentido, fica evidente que a AN flutua em diferentes escalas de tempo, por mecanismos distintos, atingindo picos seguidos de atividade reduzida, ou nula, durante o

crescimento da planta. É provável que, nesse estudo, no momento em que foi realizada a única amostragem (50 DAE), as BPCV não se encontravam estimuladas o suficiente para exibir atividade máxima da enzima, diferenciando os tratamentos. De todo modo, os resultados contribuem para demonstrar que existem limitações, que devem ser consideradas ao se adotar esse método, exclusivamente, como indicador da FBN, principalmente quando a avaliação for pontual, ou seja, em um único momento durante o ciclo de cultivo do milho.

4.3.4. Solubilização de fosfato

Foram observados efeitos dos tratamentos para o teor de P inorgânico precipitado com Ca no solo rizosférico (Figura 13). O P-Ca foi reduzido, substancialmente, nos tratamentos inoculados e na testemunha absoluta (TA). Avaliando os tratamentos em conjunto, observou-se que os teores de P-Ca foram 22 e 27% superiores em T50 e T100, respectivamente (Figura 13).

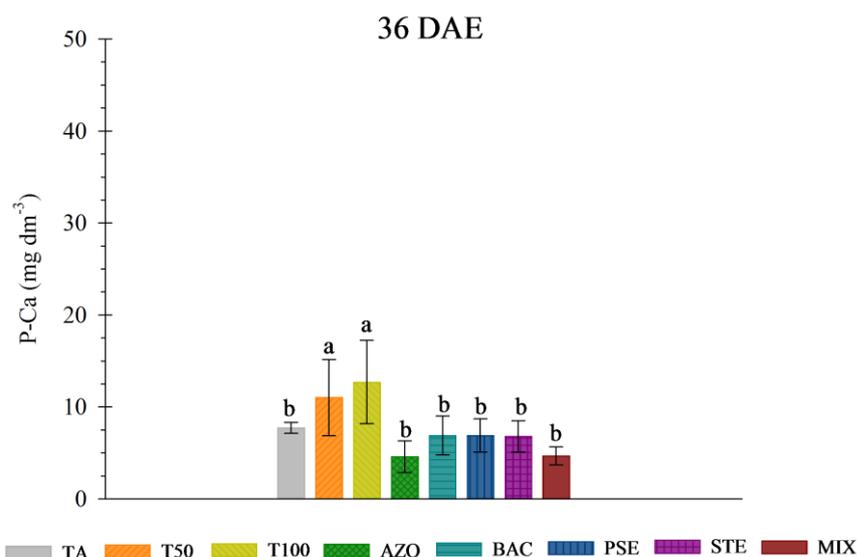


Figura 13. Solubilização de P-Ca no solo rizosférico em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus sp.*; **PSE** - *Pseudomonas spp.*; **STE** - *Stenotrophomonas spp.*; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

Observou-se que, independentemente do tratamento, as bactérias adicionadas foram eficientes em solubilizar parte do fosfato que estava precipitado com Ca, tornando-o, conseqüentemente, disponível às plantas. Os resultados de TA demonstraram a evidente contribuição dos microrganismos nativos na disponibilização do P inorgânico. Os resultados de T50 e T100, entretanto, indicam um efeito limitante da fertilização nitrogenada no desempenho

das bactérias solubilizadoras de fosfato nativas do solo. Isso se deve, possivelmente, ao uso de sulfato de amônio como fonte de N mineral (MPANGA et al., 2019). A solubilização de fosfato pelas bactérias nativas foi reduzida quando N foi aplicado, como sugere a TA, que foi o único tratamento em que não houve fertilização nitrogenada, inclusive na base.

O pH do solo (pH 6,5) (Tabela 1); a temperatura do ambiente (26°C) (Figura 2); e a umidade do solo (próxima à capacidade de campo, devido a irrigação), podem ter contribuído para intensificar a nitrificação do NH_4^+ adicionado como fertilizante (NORTON; OUYANG, 2019). De acordo com Sharma et al. (2013), um dos principais mecanismos utilizados pelas bactérias solubilizadoras de fosfato é a protonação do meio. Em associação com as raízes das plantas, estes microrganismos assimilam NH_4^+ e liberam H^+ do seu citoplasma para a superfície externa, acidificando o solo e liberando o P insolúvel. Portanto, a oxidação do NH_4^+ a formas nítricas, supostamente, limitou a atuação das bactérias nativas que utilizam essa via para solubilização de P-Ca. Adicionalmente, é possível ainda, que o crescimento exponencial da população de nitrificantes, em função do aumento transitório de substrato (N na forma de NH_4^+) tenha contribuído, incisivamente, para este processo no microbioma estudado.

Neste sentido, acredita-se que fatores específicos determinaram a atuação das BPCV adicionadas, em relação às nativas do solo. O principal deles, é que as bactérias inoculadas pertencem a gêneros, reconhecidamente, promotores de crescimento vegetal, sendo capazes de atuar sob condições diversificadas (RODRIGUEZ et al., 2004; ALORI; GLICK; BABALOLA, 2017; LIMA et al., 2018).

Florio et al. (2017), investigaram a inoculação de *Azospirillum* spp. em plantas de milho e o seu efeito em comunidades de microrganismos (de) nitrificantes. Os autores sugeriram que a inoculação aumentou a evapotranspiração da cultura, provocando alterações no regime hídrico do solo (para níveis limitantes a nitrificação), reduzindo, conseqüentemente, a abundância de nitrificadores. Isso demonstra que, as BPCV, dispõem de mecanismos especiais para superar condições desfavoráveis ao desenvolvimento das culturas. Essa característica pode explicar o desempenho dos tratamentos inoculados na solubilização do P-Ca, mesmo com a adição de sulfato de amônio.

Estudos relataram que bactérias gram-negativas, como *Azospirillum* spp., *Pseudomonas* spp; e *Stenotrophomonas* spp., atuam próximas as raízes, onde há maior disponibilidade de glicose (RODRIGUEZ et al., 2004; SULEMAN et al., 2018). Através da oxidação não fosforilante no espaço periplásmico, esses microrganismos convertem, rapidamente, grandes quantidades de açúcar em ácido glucônico (CHHABRA et al., 2013). Essa

substância atua como agente quelante de Ca^{2+} , além de acidificar o meio, dissolvendo fosfatos de Ca pouco solúveis na rizosfera (SASHIDHAR; PODILE, 2010;).

As BPCV podem, ainda, promover o desenvolvimento radicular pela liberação de fitormônios (especialmente auxinas), que aumentam a captação de água e nutrientes pelas plantas (MOHITE, 2013). Indiretamente, o estímulo ao transporte de íons contribui para a solubilização do P na rizosfera, com a liberação de prótons pelas raízes para o equilíbrio de cargas no solo (VACHERON et al., 2013).

Diante do exposto, nota-se que existe um potencial efetivo para solubilização de P-Ca pelas bactérias estudadas (AZO, BAC, PSE, STE), individualmente, ou co-inoculadas (MIX). Por outro lado, a fertilização nitrogenada pode ter comprometido a atuação das bactérias nativas em T50 e T100. Todavia, Mpanga et al. (2019), avaliando formas de suprimento de N a plantas de milho inoculadas com microrganismos solubilizadores de P, obtiveram resultados promissores. Os autores realizaram um experimento de campo, em solo alcalino (pH 8,6) e observaram que a inoculação, combinada com sulfato de amônio estabilizado com inibidor de nitrificação, garantiu rendimentos superiores ao controle, que recebeu P solúvel. Deste modo, esses resultados podem nortear futuras pesquisas, relacionadas ao potencial de atuação das bactérias solubilizadoras de fosfato sob condições nitrificantes.

4.3.5. Conteúdo de P na parte aérea

As plantas inoculadas com AZO, BAC, STE e o MIX apresentaram um conteúdo de P na parte aérea 29% superior aos demais tratamentos (Figura 14). Isso corresponde a um incremento médio de $10,40 \text{ kg ha}^{-1}$ de P absorvidos pela cultura.

A contribuição da solubilização de P pelas bactérias (AZO, BAC, STE e o MIX) torna-se ainda mais evidente ao considerar: a quantidade de P disponível no solo antes do ensaio [2 mg dm^{-3} de P (Melich-1)] (Tabela 1); a quantidade adicionada via fertilização (80 kg ha^{-1} de P_2O_5); e o conteúdo médio de P na parte aérea do milho nestes tratamentos ($\cong 36 \text{ kg ha}^{-1}$ de P). Assumindo que o P disponível foi totalmente consumido pela planta, e que a eficiência de uso do P adicionado como fertilizante foi de 16% (DHILLON et al., 2017), as BPCV via solubilização, foram responsáveis por 73% ($\cong 26 \text{ kg ha}^{-1}$) do P exportado para a parte aérea do milho.

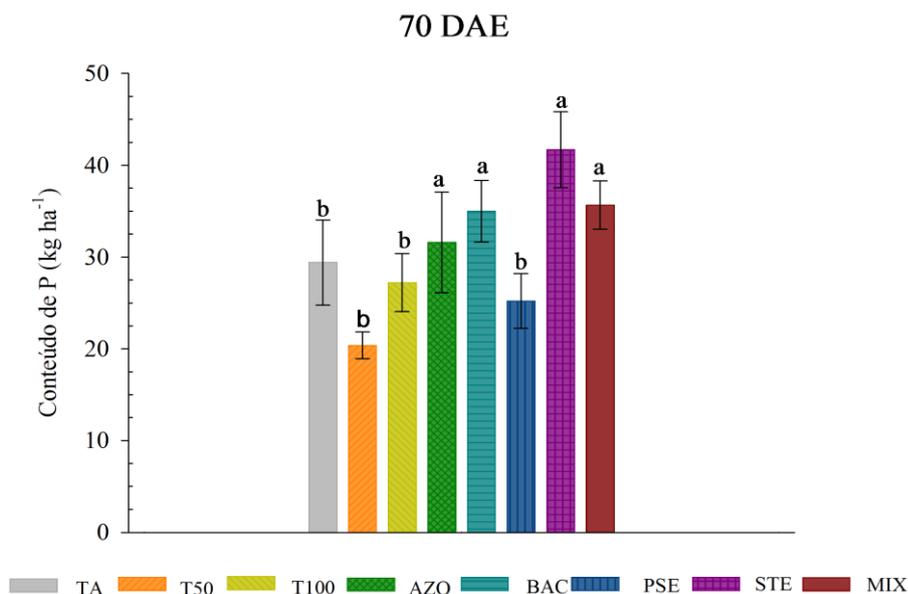


Figura 14. Acúmulo de P na parte aérea de plantas de milho em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus sp.*; **PSE** - *Pseudomonas spp.*; **STE** - *Stenotrophomonas spp.*; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE

Adicionalmente, a relevância da atividade das bactérias neste estudo se evidencia pela baixa capacidade do milho em induzir, naturalmente, alterações no pH do solo por ação das raízes, o que limita a cultura de absorver o P-Ca (HINSINGER, 2001). A rizosfera das gramíneas é muito menos ácida do que a rizosfera das leguminosas (RAO et al., 2002)

Neste sentido, o conteúdo de P na parte aérea apenas reflete a atuação eficiente das bactérias na solubilização do P no solo rizosférico (Figura 13). Quanto aos tratamentos TA e PSE, embora tenham apresentado eficiência na solubilização do P-Ca, o baixo desempenho em área foliar (Figura 6) e N acumulado (Figura 11), podem ter determinado a eficiência de absorção do P pela cultura.

Estudos com BPCV potenciais solubilizadoras de P têm sido realizados frequentemente. No entanto, são escassas as pesquisas em que esta atividade é demonstrada diretamente no campo, o que limita as possibilidades de comparação. Neste contexto, a partir de testes realizados in vitro, Breda, Alves e Reis (2016), avaliaram em campo o efeito da inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* e doses de nitrogênio (50 e 100 kg ha⁻¹ de N) sobre a produtividade do milho. Os autores observaram que a inoculação combinada a dose de 50 kg ha⁻¹ de N, resultou em incrementos de até 100% no P acumulado pela cultura em relação ao TA.

Semelhantemente, Viruel et al. (2014), avaliaram em campo, o efeito da inoculação de bactérias solubilizantes de P no crescimento e rendimento do milho. Os autores verificaram que as plantas inoculadas com *Pseudomonas tolaasii* e não adubadas com P, apresentaram teores de P na parte aérea, significativamente superiores, em comparação com as testemunhas fosfatadas.

4.4. Produtividade de espigas no ponto de ensilagem

Os tratamentos apresentaram efeito para a produtividade de espigas, com e sem palha no ponto de ensilagem (Figura 15). Presumivelmente, as diferenças observadas nas variáveis área foliar, clorofila e, sobretudo, acúmulo de N e P na parte aérea, foram determinantes para o desempenho da produtividade das BPCV.

Os tratamentos BAC e AZO apresentaram as maiores médias de produtividade de espigas, equiparando-se ao T100. Individualmente, essas bactérias incrementaram o rendimento de espigas sem palha em 12,80% (AZO) e 17,58% (BAC), com uma produtividade média de 10.222 kg ha⁻¹ (Figura 15). Para espigas com palha, os incrementos de AZO e BAC foram 10,97 e 17,03% superiores, respectivamente, com uma produtividade média de 12.033 kg ha⁻¹ (Figura 15).

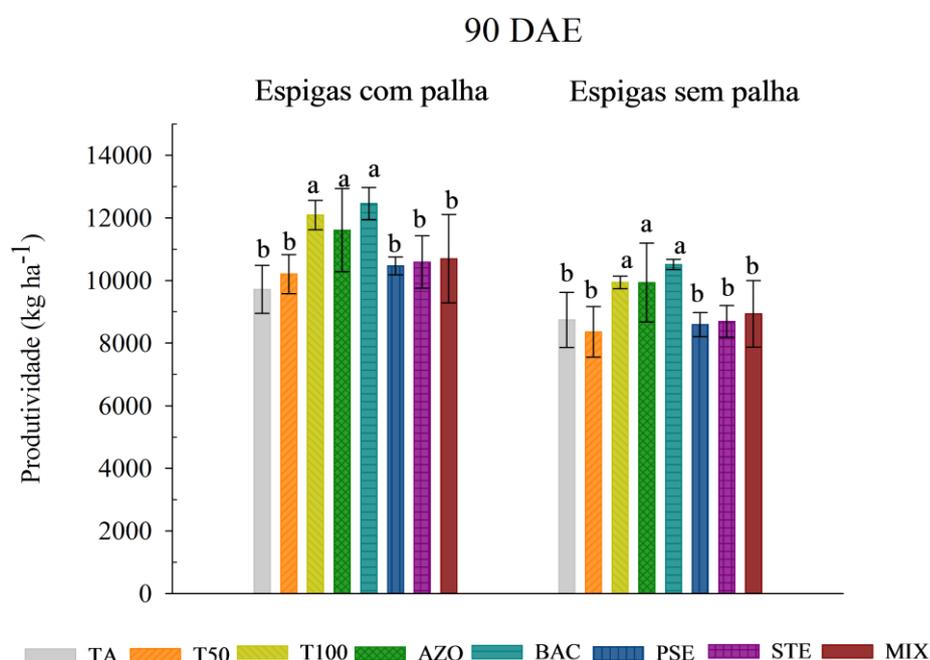


Figura 15. Produtividade de espigas com e sem palha no ponto de silagem em função da inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal e da adubação nitrogenada em plantas de milho. **TA** - Testemunha absoluta; **T50** - Testemunha com 50% do N em cobertura; **T100** - Testemunha com 100% do N em cobertura; **AZO** - *Azospirillum brasilense*; **BAC** - *Bacillus* sp.; **PSE** - *Pseudomonas* spp.; **STE** - *Stenotrophomonas* spp.; **MIX** - Mistura de BAC + PSE + STE.

O rendimento de espigas obtido por BAC e AZO é, possivelmente, um reflexo do comportamento desses tratamentos quanto a FBN, evidenciado pelo acúmulo de N (Figura 11) e solubilização biológica de fosfato (Figura 13), garantindo o suprimento adequado de N e P à cultura. Para BAC, isso se estende a superioridade em área foliar (Figura 6) e clorofila total (Figura 7). Deste modo, o desempenho geral de plantas inoculadas com BAC nesse estudo, atribui à essa BPCV, o status de microrganismo mais eficiente para a promoção do crescimento do milho.

Em termos gerais, nota-se que a habilidade em disponibilizar, ao mesmo tempo, N e P às plantas, pode ter determinado o sucesso (ou o insucesso) das bactérias estudadas, em elevar a produtividade da cultura. Isso fica evidenciado para o MIX, que apresentou alta solubilização e estoque do P na parte aérea (Figuras 13 e 14), mas não acumulou N aos 50 e 70 DAE (Figura 11). Como os resultados em área foliar também foram baixos (Figura 6), é possível presumir, que a remobilização do N na planta tenha sido ineficiente, reduzindo o desempenho deste tratamento. Por outro lado, T50 apresentou elevado acúmulo de N, aos 50 e 70 DAE (Figura 11), além de apresentar satisfatório desempenho de área foliar (Figura 6), no entanto, este tratamento não foi capaz de solubilizar (Figura 13) e, conseqüentemente, exportar o P para a parte aérea das plantas (Figura 14).

Para a TA e PSE, o baixo rendimento foi esperado. Apesar do bom desempenho em solubilizar o P (Figura 13), estes tratamentos tiveram reduções em área foliar (Figura 6), bem como, na aquisição de N e P para a parte aérea do milho (Figuras 11 e 14). Em contrapartida, o rendimento do T100 deve estar vinculado ao bom desempenho em área foliar (Figura 6), clorofila (Figura 7) e acúmulo de N (Figura 11) neste tratamento. Essa condição, provavelmente, compensou a baixa capacidade de solubilização do P-Ca das bactérias nativas (Figura 13), em virtude de um sistema radicular bem desenvolvido, permitindo a aquisição e transporte do P disponível à parte aérea do milho.

Em relação ao tratamento STE, provavelmente, a baixa produtividade não esteve relacionada, exclusivamente à aquisição de N e P (Figuras 11 e 14). Esses resultados podem estar associados à algum evento prejudicial ao desempenho fotossintético das plantas, durante o período avaliado. Esta condição se expressou pela redução no acúmulo de biomassa aos 36 DAE (Figura 10); baixo rendimento fotossintético (F_v/F_m) aos 50 DAE (Figura 8) e baixo índice relativo de clorofila, aos 70 DAE (Figura 7).

Devido à escassez de estudos que avaliem a produtividade de espigas no ponto de ensilagem do milho, a mensuração da contribuição das bactérias estudadas, nessa variável

específica, torna-se limitada. Contudo, as demais variáveis observadas são comumente avaliadas em estudos envolvendo o desempenho de BPCV em cultivos de milho.

Ademais, para efeito de compreensão, Crevelari et al. (2019) avaliaram, por correlação canônica, o desempenho de genótipos de milho para produção de silagem. Estes autores encontraram uma correlação positiva entre o rendimento de espigas no ponto de ensilagem, empalhadas ou não, e os quantitativos de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro, lignina, gordura bruta e matéria mineral; características essenciais para a qualidade da silagem. Adicionalmente, os híbridos com melhor desempenho, apresentaram produtividade de espigas no ponto de ensilagem em 13.598 kg ha⁻¹ (com palha) e 9.991 kg ha⁻¹ (sem palha).

5. CONCLUSÕES

- As bactérias estudadas são eficientes solubilizadoras de fosfato em condições de campo;
- As bactérias estudadas contribuíram para uma maior absorção de N, contudo, a estimativa da AN oferece limitações quanto ao uso exclusivo como indicador da FBN, principalmente quanto avaliada em um único período durante o ciclo da cultura;
- A eficiência da promoção do crescimento do milho está relacionada, sobretudo, à eficiência das bactérias em aumentar a absorção de N e P à cultura, por meio da FBN e da solubilização biológica do P;
- *Bacillus sp.* foi eficiente na promoção do crescimento do milho, obtendo desempenho equivalente ao T100, mesmo utilizando apenas 50% da dose de N recomendada em cobertura.
- Pelo conjunto dos resultados apresentados, *Bacillus sp.* e *Azospirillum brasilense* podem ser consideradas as BPCV mais eficientes nesse estudo;
- O desempenho apresentado por *Bacillus sp.* no presente estudo pode ser considerado em pesquisas futuras, relacionadas à produção de bio-inoculantes para uso no milho em ambientes semelhantes aos desse estudo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBODJATO, N. A.; NOUMAVO, P. A.; BABA-MOUSSA, F.; SALAMI, H. A.; SINA, H.; SÈZAN, A.; BANKOLÉ, H.; ADJANOHOON, A.; BABA-MOUSSA, L. Characterization of Potential Plant Growth Promoting Rhizobacteria Isolated from Maize (*Zea mays* L.) in Central and Northern Benin (West Africa). **Applied and Environmental Soil Science**, Londres, v. 2015, p.1-9, jul. 2015. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1155/2015/901656>>.

AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and Applications of Plant Growth Promoting Rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University - Science**, Riade, v. 26, n. 1, p.1-20, jan. 2014. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>>.

AHLGREN, S.; BERNESSON, S.; NORDBERG, Å.; HANSSON, P. A. Nitrogen Fertiliser Production Based on Biogas – Energy Input, Environmental Impact and Land Use. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 101, n. 18, p.7181-7184, set. 2010. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.006>>.

ALBUQUERQUE, A. W.; SANTOS, J. R.; MOURA FILHO, G.; REIS, L. S. Plantas de Cobertura e Adubação Nitrogenada na Produção de Milho em Sistema De Plantio Direto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 7, p.721-726, jul. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s1415-43662013000700005>>.

ALLEN, R.G.; PEREIRA, L.S.; RAES, D.; SMITH, M. **Crop evapotranspiration - Guidelines for Computing Crop Water Requirements**. FAO Irrigation and drainage paper 56. Food and Agriculture Organization, Roma, 1998. 370p.

ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, p.1-8, jun. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>>.

ALVARES C.A.; STAPE J.L.; SENTELHAS P.C.; GONÇALVES J.L.M.; SPAROVEK G. Köppen's Climate Classification Map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p.711-728, dez. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>>.

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**, Dordrecht, v. 387, n. 1-2, p.307-321, out. 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-014-2295-2>>.

ALVES, G. C.; MACEDO, A. V. M.; REIS JÚNIOR, F. B.; URQUIAGA, S. Plant Growth Promotion by Four Species of the Genus *Burkholderia*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 399, n. 1-2, p.373-387, out. 2015. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-015-2701-4>>.

AMIN, M. E. H. Effect of Different Nitrogen Sources on Growth, Yield and Quality of Fodder Maize (*Zea mays* L.). **Journal of The Saudi Society of Agricultural Sciences**, Riade, v. 10, n. 1, p.17-23, jan. 2011. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2010.06.003>>.

ANDRADE, C. L. T.; AMARAL, T. A.; DUARTE, J. O.; GARCIA, J. C.; SILVA, D. F.; MARTINS, P. C. Simulated Yield and Net Return of a Maize Crop Fertilized with Different Sources and Rates of Nitrogen. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 11, n. 3, p.254-267, dez. 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v11n3p254-267>>.

BACKER, R.; ROKEM, J. S.; ILANGUMARAN, G.; LAMONT, J.; PRASLICKOVA, D.; RICCI, E.; SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D. L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, n. esp. p.1-20, out. 2018. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>>.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of Chlorophyll Fluorescence can Improve Crop Production Strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 55, n. 403, p.1607-1621, jul. 2004. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erh196>>.

BALANDREAU, J. P., MILLIER, C. R; DOMMERGUES, Y. R. 1974 Diurnal Variations of Nitrogenase Activity in the Field. **Appl. Microbiol**, Washington, v.27, n. 4, p.662-665, abr. 1974.

BALDANI, J.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S.R.; DÖBEREINER, J. Recent Advances in BNF With Non-Legume Plants. **Soil Biology and Biochemistry**, Kidlington, v. 29, n. 5-6, p.911-922, maio 1997. Disponível em:<[http://dx.doi.org/10.1016/s0038-0717\(96\)00218-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0038-0717(96)00218-0)>.

BARBOSA, R. H.; TABALDI, L. A.; MIYAZAKI, F. R.; PILECCO, M.; KASSAB, S. O.; BIGATON, D. Foliar Copper Uptake by Maize Plants: effects on growth and yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 9, p.1561-1568, set. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782013000900005>>.

BAREA, J. M. Future Challenges and Perspectives for Applying Microbial Biotechnology in Sustainable Agriculture Based on a Better Understanding of Plant-Microbiome Interactions. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Santiago, v.15 n.2, p.261-282, 2015. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.4067/s0718-95162015005000021>>.

BARNAWAL, D.; BHARTI, N.; PANDEY, S. S.; PANDEY, A.; CHANOTIYA, C. S.; KALRA, A. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Wheat Salt and Drought Stress Tolerance by Altering Endogenous Phytohormone Levels and TaCTR1/TaDREB2 Expression. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 161, n. 4, p.502-514, out. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/ppl.12614>>.

BELTRÃO, B. A.; MASCARENHAS, J. C.; MIRANDA, J. L. F.; SOUZA JUNIOR, L. C.; GALVÃO, M. J. T. G.; PEREIRA, S. N. **Diagnóstico do Município da Passira - Projeto Cadastro de Fontes de Abastecimento de Águas Subterrâneas de Pernambuco**. Recife, 2005.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG, B. Photon Yield of O₂ Evolution and Chlorophyll Fluorescence Characteristics At 77 K Among Vascular Plants of Diverse Origins. **Planta**, Dordrecht, v. 170, n. 4, p.489-504, abr. 1987. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/bf00402983>>.

BLACKWELL, M. S. A; DARCH, T.; HASLAM, R. Phosphorus Use Efficiency and Fertilizers: future opportunities for improvements. **Frontiers of Agricultural Science and Engineering**, Boston, v. 6, n. 4, p.332-340, jul. 2019. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.15302/j-fase-2019274>>.

BODDEY, L. H.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. **Avaliação da fixação biológica de N₂ associada a leguminosas e não-leguminosas utilizando a técnica da redução do acetileno: história, teoria e prática.** Seropédica: Documentos/Embrapa Agrobiologia, 2007. p.26-30.

BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P; BAKER, N. R.; OQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E. G. Chlorophyll Fluorescence as a Probe of the Photosynthetic Competence of Leaves in the Field: a review of current Instrumentation. **Functional Ecology**, Londres, v. 3, n. 4, p.497-514, jun. 1989. JSTOR. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2307/2389624>>.

BORRÁS, L.; MADDONNI, G. A.; OTEGUI, M. E. Leaf Senescence in Maize Hybrids: Plant Population, Row Spacing and Kernel Set Effects. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 82, n. 1, p.13-26, mar. 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4290\(03\)00002-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4290(03)00002-9).

BREDA, F. A. F.; ALVES, G. C.; REIS, V. M. Produtividade de Milho na Presença de Doses de N e de Inoculação de *Herbaspirillum seropedicae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 1, p.45-52, 2016. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2016000100006>>.

CASSMAN, K. G.; MUNNS, D. N. Nitrogen Mineralization as Affected by Soil Moisture, Temperature, and Depth. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 44, n. 6, p.1233-1237, 1980. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.2136/sssaj1980.03615995004400060020x>>.

CHANG, S. C.; JACKSON, M. L.. Fractionation of Soil Phosphorus. **Soil Science**, Baltimore, v. 84, n. 2, p. 133-144, ago. 1957. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1097/00010694-195708000-00005>>.

CHHABRA, S.; BRAZIL, D.; MORRISSEY, J.; JAMES I. B.; O'GARA, F.; DOWLING, D. N. Characterization of Mineral Phosphate Solubilization Traits from A Barley Rhizosphere Soil Functional Metagenome. **Microbiologyopen**, Nova York, p.717-724, jul. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1002/mbo3.110>>.

CHILDERS, D. L.; CORMAN, J.; EDWARDS, M.; ELSER, J. J.. Sustainability Challenges of Phosphorus and Food: solutions from closing the human phosphorus cycle. **Bioscience**, Oxônia, v. 61, n. 2, p. 117-124, fev. 2011. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1525/bio.2011.61.2.6>>.

CHOUDHURY, A. T. M. A.; KENNEDY, I. R. Nitrogen Fertilizer Losses from Rice Soils and Control of Environmental Pollution Problems. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 36, n. 11-12, p.1625-1639, jun. 2005. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1081/css-200059104>>.

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C.; ROCHA, A. F. S. Efficiency of Inoculant with *Azospirillum brasilense* on the Growth and Yield of Second Harvest Maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Brasília, v. 45, n. 3, p.304-311, set. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632015v4534593>>.

CREVELARI, J. A.; DURÃES, N. N. L.; SANTOS, P. R.; AZEVEDO, F. H. V.; BENDIA, L. C. R.; PREISIGKE, S. C.; GONÇALVES, G. M. B.; FERREIRA JUNIOR, J. A.; PEREIRA, M. G. Canonical Correlation for Morphoagronomic and Bromatological Traits in Silage Corn Genotypes. **Bragantia**, Campinas, v. 78, n. 3, p.337-349, set. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.20180146>>.

CUNHA, FERNANDO N.; SILVA, N. F.; BASTOS, F. J. C.; CARVALHO, J. J.; MOURA, L. M. F.; TEIXEIRA, M. B.; ROCHA, A. C.; SOUCHIE, E. L. Efeito da *Azospirillum brasilense* na Produtividade de Milho no Sudoeste Goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, n. 3, p.261-272, dez. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v13n3p261-272>>.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MENEZES, C. R. J.; FREIBERGER, M. B.; CASTOLDI, G.; GONÇALVES, E. D. V. Maize Response to Inoculation with Strains of Plant Growth-Promoting Bactéria. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, n. 7, p.606-611, jul. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n7p606-611>>.

DHILLON, J.; TORRES, G.; DRIVER, E.; FIGUEIREDO, B.; RAUN, W. R. World Phosphorus Use Efficiency in Cereal Crops. **Agronomy Journal**, Madison, v. 109, n. 4, p.1670-1677, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2134/agronj2016.08.0483>>.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Philadelphia, v. 22, n. 2, p.107-149, mar. 2003. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/713610853>.

DONG, C.J.; WANG, L.L.; LI, Q.; SHANG, Q.M. Bacterial Communities in the Rhizosphere, Phyllosphere and Endosphere of Tomato Plants. **Plos One**, San Francisco, v. 14, n. 11, p.1-17, nov. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0223847>>.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solo, plantas e fertilizantes** 2. ed. Brasília. 2009. 627p.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solos**. 3. ed. Brasília. 2017, 575p.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília. 2018. 590 p.

EMBRAPA. **Soluções tecnológicas: inoculante para gramíneas**. 2011. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/2650/inoculante-para-gramineas>>. Acesso em 04 jan. 2020.

EPA (Estados Unidos). Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. **Nutrient Pollution: The Problem**. 2019. Disponível em: <<https://www.epa.gov/nutrientpollution/issue>> Acesso em 10 jun. 2019.

FAN, K.; DELGADO-BAQUERIZO, M.; GUO, X.; WANG, D.; WU, Y.; ZHU, M.; YU, W.; YAO, H.; ZHU, Y.; CHU, H. Suppressed N Fixation and Diazotrophs After Four Decades of Fertilization. **Microbiome**, Londres, v. 7, n. 1, t. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s40168-019-0757-8>>.

FAO (Itália). Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Plant Nutrition for Food Security: A Guide for Integrated Nutrient Management**. FAO: Roma, 2006. p.54. ISBN 9251054908.

FAO (Itália). Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The Future of Food and Agriculture: Trends and Challenges**; FAO: Roma, 2018. p. 8. ISBN 9789251301586.

FAOSTAT (Itália). Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistics Division**. Roma, 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>> Acesso em: 15 dez. 2019.

FERNANDEZ, M. G. S.; BECRAFT, P. W.; YIN, Y.; LÜBBERSTEDT, T. From Dwarves to Giants? Plant Height Manipulation for Biomass Yield. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 14, n. 8, p.454-461, ago. 2009. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2009.06.005>>.

FINKEL, O. M.; CASTRILLO, G.; PAREDES, S. H.; GONZÁLEZ, I. S.; DANGL, J. L. Understanding and Exploiting Plant Beneficial Microbes. **Current Opinion in Plant Biology**, Amsterdam, v. 38, p.155-163, ago. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.018>>.

FLORES, R. A.; URQUIAGA, S. S.; ALVES, BRUNO J. R.; COLLIER, L. S.; MORAIS, R. F.; PRADO, R. M. Adubação Nitrogenada e Idade de Corte na Produção de Matéria Seca do Capim-Elefante no Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 12, p.1282-1288, dez. 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/s1415-43662012001200004>>.

FLORIO, A.; POMMIER, T.; GERVAIX, J.; BÉRARD, A.; ROUX, X. L. Soil C and N Statuses Determine the Effect of Maize Inoculation by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Nitrifying and Denitrifying Communities. **Scientific Reports**, Londres, v. 7, n. 1, p.1-12, ago. 2017. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-08589-4>>.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing Inoculation Methods of Maize and Wheat with *Azospirillum brasilense*. **Amb Express**, Londres, v. 6, n. 1, p.1-12, jan. 2016. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1186/s13568-015-0171-y>>.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and Induction of Plant-Stress Tolerance and Defense Genes by Seed and Foliar Inoculation with *Azospirillum brasilense* Cells and Metabolites Promote Maize Growth. **Amb Express**, Londres, v. 7, n. 1, p.1-13, jul. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13568-017-0453-7>>.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; PAGLIARI, P. H.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J.; MEGDA, M. M.; NOGUEIRA, T. A. R.; ANDREOTTI, M.; ARF, O. Maize Yield Response to Nitrogen Rates and Sources Associated with *Azospirillum brasilense*. **Agronomy Journal**, Madison, v. 111, n. 4, p.1985-1997, jul. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2134/agronj2018.07.0481>>.

GHOLAMI, A.; BIYARI, A.; GHOLIPOOR, M.; RAHMANI, H. A. Growth Promotion of Maize (*Zea mays* L.) by Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria under Field Conditions. **Communications In Soil Science And Plant Analysis**, Philadelphia, v. 43, n. 9, p.1263-1272, maio 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/00103624.2012.666302>>.

GLICK, B. R. Modulation of Plant Ethylene Levels by the Bacterial Enzyme ACC Deaminase. **Fems Microbiology Letters**, Oxford, v. 251, n. 1, p.1-7, out. 2005. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1016/j.femsle.2005.07.030>.

GUPTA, S.; KAUSHAL, R.; SOOD, G.; DIPTA, B.; KIRTI, S.; SPEHIA, R. S. Water Stress Amelioration and Plant Growth Promotion in *Capsicum* Plants by Osmotic Stress Tolerant Bacteria. **International Journal of Plant & Soil Science**, Londres, p.1-12, jul. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.9734/ijpss/2019/v29i230136>>.

HARDY, R. W. F.; HOLSTEN, R. D.; JACKSON, E. K.; BURNS, R. C.. The Acetylene-Ethylene Assay for N₂ Fixation: laboratory and field evaluation. **Plant Physiology**, Rockville, v. 43, n. 8, p. 1185-1207, ago. 1968. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>>.

HAO, B.; XUE, Q.; MAREK, T. H.; JESSUP, K. E.; HOU, X.; XU, W.; BYNUM, E. D.; BEAN, B. W. Radiation Use Efficiency, Biomass Production, and Grain Yield in Two Maize Hybrids Differing in Drought Tolerance. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Londres, v. 202, n. 4, p.269-280, dez. 2015. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1111/jac.12154>>.

HAVÉ, M.; MARMAGNE, A.; CHARDON, F.; MASCLAUX-DAUBRESSE, C. Nitrogen Remobilisation During Leaf Senescence: lessons from *Arabidopsis* to crops. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.68, n.10, p.2513-2529, oct. 2016. Disponível:<<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erw365>>.

HAWES, M. C.; GUNAWARDENA, U.; MIYASAKA, S.; ZHAO, X. The Role of Root Border Cells in Plant Defense. **Trends in Plant Science**, Londres, v. 5, n. 3, p.128-133, mar. 2000. Disponível em:<[http://dx.doi.org/10.1016/s1360-1385\(00\)01556-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01556-9)>.

HAWKESFORD, M. J. Reducing the Reliance on Nitrogen Fertilizer for Wheat Production. **Journal of Cereal Science**, Amsterdam, v. 59, n. 3, p.276-283, mai. 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.12.001>>.

HINSINGER, P. Bioavailability of Soil Inorganic P in the Rhizosphere as Affected by Root-Induced Chemical Changes: a review. **Plant And Soil**, Dordrecht, v. 237, n. 2, p.173-195, 2001. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1023/a:1013351617532>>.

HUANG, S.; GAO, Y.; LI, Y.; XU, L.; TAO, H.; WANG, P.. Influence of plant architecture on maize physiology and yield in the Heilonggang River valley. **The Crop Journal**, Amsterdã, v. 5, n. 1, p. 52-62, fev. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.cj.2016.06.018>>.

HUNGRIA M. (2011) Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. (**Circular Técnica 325**) (ISSN:1516-781X)

HUNGRIA, M. *Azospirillum*: um velho novo aliado In: reunião brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas, 32.; reunião brasileira sobre micorrizas, 16.; simpósio brasileiro de microbiologia do solo, 14.; reunião brasileira de biologia do solo, 11., 2016, Goiânia. Rumo aos novos desafios: [anais]. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2016. FertBio 2016. Disponível em:<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/150694/1/Mariangela-Hungria-Azospirillum-Fertbio.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2019

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with Selected Strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* Improves Yields of Maize and Wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 331, n. 1-2, p.413-425, jan. 2010. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>>.

IPA - Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações de adubação para o Estado de Pernambuco**. 2ª ed. Recife, 2008. 198p.

IRELAND, C. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R. The Relationship Between Carbon Dioxide Fixation and Chlorophyll a Fluorescence During Induction of Photosynthesis in Maize Leaves at Different Temperatures and Carbon Dioxide Concentrations. **Planta**, Dordrecht, v. 160, n. 6, p.550-558, maio 1984. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/bf00411144>>.

JOE, M. M.; DEIVARAJ, S.; BENSON, A.; HENRY, A. J.; NARENDRAKUMARC, G. Soil Extract Calcium Phosphate Media for Screening of Phosphate-Solubilizing Bacteria. **Agriculture and Natural Resources**, Bangkok, v. 52, n. 3, p.305-308, jun. 2018. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.anres.2018.09.014>>.

KELLY, J.; CRAIN, J. L.; RAUN, W. R. By-Plant Prediction of Corn (*Zea mays* L.) Grain Yield using Height and Stalk Diameter. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 46, n. 5, p.564-575, jan. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/00103624.2014.998340>>.

KIFLE, M. H.; LAING, M. D. Effects of Selected Diazotrophs on Maize Growth. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, n. esp., p.1-8, set. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.01429>>.

KOLB, W; MARTIN, P. Influence of Nitrogen on the Number of N²-Fixing and Total Bacteria in the Rhizosphere. **Soil Biology and Biochemistry**, Kidlington, v. 20, n. 2, p.221-225, jul. 1988. Disponível em:<[http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717\(88\)90040-5](http://dx.doi.org/10.1016/0038-0717(88)90040-5)>.

KUAN, K. B.; OTHMAN, R.; RAHIM, K. A.; SHAMSUDDIN, Z. H. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Inoculation to Enhance Vegetative Growth, Nitrogen Fixation and Nitrogen Remobilisation of Maize under Greenhouse Conditions. **Plos One**, San Francisco, v. 11, n. 3, p.1-9, mar. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0152478>>.

LANA, Maria do Carmo et al. Inoculation with *Azospirillum*, Associated with Nitrogen Fertilization in Maize. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 3, p.399-405, jun. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/s0034-737x2012000300016>>.

LIMA, B. C.; MORO, A. L.; PACHECO, A. C. S.; BONIFACIO, A.; ARAUJO, A. S. F.; ARAUJO, F. F. *Bacillus subtilis* Ameliorates Water Stress Tolerance in Maize and Common Bean. **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v. 14, n. 1, p.432-439, jan. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/17429145.2019.1645896>>.

LIMA, D. R. M.; SANTOS, I. B.; OLIVEIRA, J. T. B.; BARBOSA, J. G.; DINIZ, W. P. S.; FARIAS, A. R. B.; FREIRE, F. J.; SOBRAL, J. K. Tolerance of Potentially Diazotrophic Bacteria to Adverse Environmental Conditions and Plant Growth-Promotion in Sugarcane. **Archives of Agronomy and Soil Science**, Oxford, v. 64, n. 11, p.1534-1548, fev. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/03650340.2018.1443212>>.

LIMA, F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B.; ARAÚJO, F. F.; LIMA, L. M.; ARAÚJO, A. S. F. *Bacillus subtilis* e Adução Nitrogenada na Produtividade do Milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 4, p.657-66, dez. 2011. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v6i4a1429>>.

LIN, W.; GUO, X.; PAN, X.; LI, Z. Chlorophyll Composition, Chlorophyll Fluorescence, and Grain Yield Change in esl Mutant Rice. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 19, n. 10, p.2945-2957, 27 set. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/ijms19102945>>.

LIU, Y.; PAN, X.; LI, J. A. 1961–2010 Record of Fertilizer Use, Pesticide Application and Cereal Yields: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Berlin, v. 35, n. 1, p.83-93, out. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s13593-014-0259-9>>.

LIU, Z.; GAO, J.; GAO, F.; LIU, P.; ZHAO, B.; ZHANG, J. Photosynthetic Characteristics and Chloroplast Ultrastructure of Summer Maize Response to Different Nitrogen Supplies. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, n. esp., p.1-13, maio 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2018.00576>>.

LONG, S. P.; FARAGE, P.K.; GARCIA, R. L. Measurement of Leaf and Canopy Photosynthetic CO₂ Exchange in the Field. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 47, n. 11, p.1629-1642, nov. 1996. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/47.11.1629>.

MARAFON, F.; NEUMANN, M.; CARLETTO, R.; WROBEL, F. L.; MENDES, E. D.; SPADA, C. A.; FARIA, M. V. Características Nutricionais e Perdas no Processo Fermentativo de Silagens De Milho, Colhidas em Diferentes Estádios Reprodutivos com Diferentes Processamentos de Grãos. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 36, n. 2, p.917-931, abr. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n2p917>>.

MAREQUE, C.; SILVA, T. F.; VOLLÚ, R. E.; BERACOCHEA, M.; SELDIN, L.; BATTISTONI, F. The Endophytic Bacterial Microbiota Associated with Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor*) Is Modulated by the Application of Chemical N Fertilizer to the Field. **International Journal of Genomics**, Londres, v. 2018, n. esp., p.1-10, set. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2018/7403670>>.

MARINI, D.; GUIMARÃES, V. F.; DARTORA, J.; LANA, M. C.; PINTO JÚNIOR, A. S. Growth and Yield of Corn Hybrids in Response to Association with *Azospirillum brasilense* and Nitrogen Fertilization. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 1, p.117-123, fev. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201562010015>>.

MARKS, B. B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F. J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Maize Growth Promotion by Inoculation with *Azospirillum brasilense* and Metabolites of *Rhizobium tropici* Enriched on Lipo-Chitooligosaccharides (LCOs). **Amb Express**, Londres, v. 5, n. 1, p.1-11, nov. 2015. Disponível:<<http://dx.doi.org/10.1186/s13568-015-0154-z>>.

MÅRTENSSON, L.; DÍEZ, B.; WARTIAINEN, I.; ZHENG, W.; EL-SHEHAWY, R.; RASMUSSEN, U. Diazotrophic Diversity, Nifh Gene Expression and Nitrogenase Activity in a Rice Paddy Field in Fujian, China. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 325, n. 1-2, p.207-218, 29 abr. 2009. Disponível em<<http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-9970-8>>.

MARTIN, P.; GLATZLE, A.; KOLB, W.; OMAI, H.; SCHMIDT, W. N²-Fixing Bacteria in the Rhizosphere: Quantification and Hormonal Effects on Root Development. **Zeitschrift Für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, Weinheim, v. 152, n. 2, p.237-245, dez. 1989. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1002/jpln.19891520216>>.

MI, G.; LIU, J.; CHEN, F.; ZHANG, F.; CUI, Z.; LIU, X. Nitrogen Uptake and Remobilization in Maize Hybrids Differing in Leaf Senescence. **Journal of Plant Nutrition**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.237-247, mar. 2003. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1081/pln-120016507>>.

MISHRA, A.; CHAUHAN, P. S.; CHAUDHRY, V.; TRIPATHI, M.; NAUTIYAL, C. S. Rhizosphere Competent *Pantoea agglomerans* enhances maize (*Zea mays* L.) and chickpea (*Cicer arietinum* L.) Growth, without Altering the Rhizosphere Functional Diversity. **Antonie van Leeuwenhoek**, Berlin, v. 100, n. 3, p.405-413, jun. 2011. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s10482-011-9596-8>>.

MOHITE, B. Isolation and Characterization of Indole Acetic Acid (IAA) Producing Bacteria from Rhizospheric Soil and Its Effect on Plant Growth. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Santiago, v. 3, n. 13, p.638-659, ago. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.4067/s0718-95162013005000051>>.

MORAIS, T. P.; BRITO, C.H.; BRANDÃO, A. M.; REZENDE, W.S. Inoculation of Maize with *Azospirillum brasilense* in the Seed Furrow. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 2, p.290-298, abr. 2016. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20160034>>.

MOSIMANN, C.; OBERHÄNSLI, T.; ZIEGLER, D.; NASSAL, D.; KANDELER, E.; BOLLER, T.; MÄDER, P.; THONAR, C. Tracing of Two *Pseudomonas* Strains in the Root and Rhizoplane of Maize, as Related to Their Plant Growth-Promoting Effect in Contrasting Soils. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, n. esp., p.1-14, 10 jan. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.02150>>.

MPANGA, I.; NKEBIWE, P.; KUHLMANN, M.; COZZOLINO, V.; PICCOLO, A.; GEISTLINGER, J.; BERGER, N.; LUDEWIG, U.; NEUMANN, G.. The Form of N Supply Determines Plant Growth Promotion by P-Solubilizing Microorganisms in Maize. **Microorganisms**, Basel, v. 7, n. 2, p. 1-18, 29 jan. 2019. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms7020038>>.

MUELLER, S.M.; VYN, T. J. Maize Plant Resilience to N Stress and Post-silking N Capacity Changes over Time: A Review. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, n. esp., p.1-14, fev. 2016. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00053>>.

MÜLLER, T. M.; SANDINI, I. E.; RODRIGUES, J. D.; NOVAKOWISKI, J. H.; BASI, S.; KAMINSKI, T. H. Combination of Inoculation Methods of *Azospirillum brasilense* with Broadcasting of Nitrogen Fertilizer Increases Corn Yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 2, p.210-215, out. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20131283>>.

MURCHIE, E.H.; LAWSON, T. Chlorophyll Fluorescence Analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 64, n. 13, p.3983-3998, ago. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ert208>>.

NAVEED, M.; BIRGIT M.; SOHAIL Y.; MILICA P.; MUHAMMAD A.; ANGELA S. The Endophyte *Enterobacter* sp. FD17: A Maize Growth Enhancer Selected Based on Rigorous Testing of Plant Beneficial Traits and Colonization Characteristics. **Biology and Fertility of Soils**, Nova York, v. 50, n. 2, p.249-262, set. 2013. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s00374-013-0854-y>>.

NORTON, J.; YANG, O. Controls and Adaptive Management of Nitrification in Agricultural Soils. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 10, n. esp. p.1-18, ago. 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.01931>>.

OLIVEIRA, A. L. M.; SANTOS, O. J. A. P.; MARCELINO, P. R. F.; MILANI, K. M. L.; ZULUAGA, M. Y. A.; ZUCARELI, C.; GONÇALVES, L. S. A. Maize Inoculation with *Azospirillum brasilense* Ab-V5 Cells Enriched with Exopolysaccharides and Polyhydroxybutyrate Results in High Productivity under Low N Fertilizer Input. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, n. esp., p.1-18, set. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.01873>>.

OLIVEIRA, J. T. C.; FIGUEREDO, E. F.; DINIZ, W. P. S.; OLIVEIRA, L. F. P.; ANDRADE, P. A. M.; ANDREOTE, F. D.; KUKLINSKY-SOBRAL, J.; LIMA, D. R.; FREIRE, F.J. Diazotrophic Bacterial Community of Degraded Pastures. **Applied and Environmental Soil Science**, Londres, v. 2017, n. esp., p.1-10, ago. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1155/2017/2561428>>.

PANDE, A.; PANDEY, P.; KAUSHIK, S. Co-Inoculation of and Enhances Plant Growth of Maize Under Green House and Field Condition. **Korean Journal of Agricultural Science**, Daejeon, v. 44, n. 2, p.196-210, jun. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.7744/kjoas.20170019>>.

PANDE, A.; PANDEY, P.; KAUSHIK, S. Phenotypic and Genotypic Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Efficiency on the Growth of Maize. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, Berlin, v. 15, n. 2, p.379-391, dez. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.06.005>>.

PAVÃO, A. R.; FILHO, J. B. S. F. Impactos Econômicos da Introdução do Milho Bt11 no Brasil: uma abordagem de equilíbrio geral inter-regional. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 49, n. 1, p.81-108, mar. 2011. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/s0103-20032011000100004>>.

PEIFFER, J. A.; ROMAY, M. C.; GORE, M. A.; FLINT-GARCIA, S. A.; ZHANG, Z.; MILLARD, M. J.; GARDNER, C. A. C.; MCMULLEN, M. D.; HOLLAND, J. B.; BRADBURY, P. J.; BUCKLER, E. S. The Genetic Architecture of Maize Height. **Genetics**, Bethesda, v. 196, n. 4, p.1337-1356, fev. 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1534/genetics.113.159152>>.

PIONEER (Estados Unidos). **Staging Corn Growth**. Disponível em:<https://www.pioneer.com/us/agronomy/staging_corn_growth.html>. Acesso em 04. jul. 2019.

PONTES, L.S.; TULLIO, G. F.; MARTINS, A. S.; MOLETTA, J. L.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V. Corn Yield for Silage and Grains in Different Integrated Crop-Livestock Systems. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 49, n. 2, p.315-323, jun. 2018. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20180036>>.

PORTES, T. A.; MELO, H. C. Light Interception, Leaf Area and Biomass Production as a Function of the Density of Maize Plants Analyzed Using Mathematical Models. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 36, n. 4, p.457-463, abr. 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v36i4.17892>>.

PRASHAR, P.; KAPOOR, N.; SACHDEVA, S. Rhizosphere: Its Structure, Bacterial Diversity and Significance. **Reviews in Environmental Science and Bio/technology**, Amsterdã, v. 13, n. 1, p.63-77, jul. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s11157-013-9317-z>>.

RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J. P.; GARCIA-CASAL, M. N. Global Maize Production, Utilization, and Consumption. **Annals of The New York Academy of Sciences**, Nova York, v. 1312, n. 1, p.105-112, mar. 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1111/nyas.12396>>.

RAO, T. P.; YANO, K.; IJIMA, M.; YAMAUCHI, A.; TATSUMI, J. Regulation of Rhizosphere Acidification by Photosynthetic Activity in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Seedlings. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, n. 2, p.213-220, fev. 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/aob/mcf030>>

REARDON, C.L.; GOLLANY, H.T.; WUEST, S.B. Diazotroph Community Structure and Abundance in Wheat–Fallow and Wheat–Pea Crop Rotations. **Soil Biology and Biochemistry**, Kidlington, v. 69, n. esp., p.406-412, fev. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.10.038>>.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Cooperative Extension Service, 1993. 21 p. (Special Report, 48). Disponível em:<https://s10.lite.msu.edu/res/msu/botonl/b_online/library/maize/www.ag.iastate.edu/departments/agronomy/cornrows.html>. Acesso em 20 de ago. 2019.

ROBERTS, T. L.; SLATON, N. A.; KELLEY, J. P.; GREUB, C. E.; FULFORD, A.M. Fertilizer Nitrogen Recovery Efficiency of Furrow-Irrigated Corn. **Agronomy Journal**, Madison, v. 108, n. 5, p.2123-2128, set. 2016. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.2134/agronj2016.02.0092>>.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic Acid Production and Phosphate Solubilization by the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 91, n. 11, p.552-555, out. 2004. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s00114-004-0566-0>>.

RODRÍGUEZ-BLANCO, A.; SICARDI, M.; FRIONI, L. Plant Genotype and Nitrogen Fertilization Effects on Abundance and Diversity of Diazotrophic Bacteria Associated with Maize (*Zea mays* L.). **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 51, n. 3, p.391-402, jan. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00374-014-0986-8>>.

SANGOI, L.; SCHWEITZER, C.; SILVA, P. R. F.; SCHMITT, A.; VARGAS, V. P.; CASAI, R. T.; SOUZA, C. A. Perfilhamento, Área Foliar e Produtividade Do Milho Sob Diferentes Arranjos Espaciais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.6, pp.609-616, jun. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2011000600006>>.

SANTOS, J. S.; VIANA, T. O.; JESUS, C. M.; BALDANI, V. 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**, Recife, v. 39, n. 1, p.78-85, fev. 2015. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/01000683rbc20150725>>.

SANTOS, L.P. D.; AQUINO, L. A.; NUNES, P. H. M. P.; XAVIER, F. O. Doses de Nitrogênio na Cultura do Milho para Altas Produtividades de Grãos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p.270-279, dez. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v12n3p270-279>>.

SANTOS, R. L. ; FREIRE, F. J. ; OLIVEIRA, E. C. A.; TRIVELIN, P. C. O.; FREIRE, M. B. G. S. ; BEZERRA, P. C. ; OLIVEIRA, R. I ; SANTOS, M. B. C. Changes in Biological Nitrogen Fixation and Natural-Abundance N Isotopes of Sugarcane Under Molybdenum Fertilization. **Sugar Tech**, Nova Deli, v. 21, n. 6, p.925-935, mar. 2019. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1007/s12355-019-00717-w>>.

SANTOS, W. O.; SOBRINHO, J. E.; MEDEIROS, J. F.; MOURA, M. S. B.; NUNES, R. L. C. Coeficientes de Cultivo e Necessidades Hídricas da Cultura do Milho Verde nas Condições do Semiárido Brasileiro. **Irriga**, Botucatu, v. 19, n. 4, p.559-572, dez. 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.15809/irriga.2014v19n4p559>>.

SANTOYOA, G.; MORENO-HAGELSIEB, G.; OROZCO-MOSQUEDA, M. C.; GLICKC, B. R. Plant Growth-Promoting Bacterial Endophytes. **Microbiological Research**, Amsterdã, v. 183, n. esp., p.92-99, fev. 2016. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>>.

SASHIDHAR, B.; PODILE, A.R. Mineral Phosphate Solubilization by Rhizosphere Bacteria and Scope for Manipulation of The Direct Oxidation Pathway Involving Glucose Dehydrogenase. **Journal of Applied Microbiology**, Londres, v. 109, n. esp., p.1-12, jul. 2010. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04654.x>>.

SHARMA, A; JOHRIA, B.N.; SHARMA, A.K; GLICKC, B.R. Plant Growth-Promoting Bacterium *Pseudomonas* sp. Strain GRP3 Influences Iron Acquisition In Mung Bean (*Vigna radiata* L. Wilzeck). **Soil Biology and Biochemistry**, Kidlington, v. 35, n. 7, p.887-894, jul. 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0038-0717\(03\)00119-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0038-0717(03)00119-6)>.

SHARMA, S. B; RIYAZ Z; MRUGESH H. T. S. Phosphate Solubilizing Microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springerplus**, Londres, v. 2, n. 1, p.1-14, 31, out. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>>.

SMIL, V. Nitrogen in Crop Production: an account of global flows. **Global Biogeochemical Cycles**, Washington, v. 13, n. 2, p.647-662, jun. 1999. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1029/1999gb900015>>.

SOUZA JÚNIOR, R. F.; OLIVEIRA F. H. T.; HEMMANNUELLA C. S. FREIRE, F. J.; ARRUDA, J.A. Frações de Fósforo Inorgânico do Solo e Suas Correlações com o Fósforo Quantificado por Extratores e Pelo Milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Recife, v. 36, n. 1, p.159-170, fev. 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/s0100-06832012000100017>>.

SOUZA, E. M.; FERNANDO, S. G.; MARCELO, C. M.; FILHO, T.; SILVA, P.R. T.; ARTHUR C.S.; FERNANDES, G. C. Does the Nitrogen Application Associated with *Azospirillum Brasilense* Inoculation Influence Corn Nutrition and Yield? **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 23, n. 1, p.53-59, jan. 2019. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v23n1p53-59>>.

SULEMAN, M.; YASMIN, S.; RASUL, M.; YAHYA, M. ATTA, B. M. MIRZA, M. S. Phosphate Solubilizing Bacteria with Glucose Dehydrogenase Gene for Phosphorus Uptake and Beneficial Effects on Wheat. **Plos One**, San Francisco, v. 13, n. 9, p.7-8, set. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0204408>>.

SUN, J.; GAO, J.; WANG, Z.; HU, S.; ZHANG, F.; BAO, H.; FAN, Y. Maize Canopy Photosynthetic Efficiency, Plant Growth, and Yield Responses to Tillage Depth. **Agronomy**, Basileia, v. 9, n. 1, p.3-5, dez. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/agronomy9010003>>.

TANG, Y.; ZHANG, M.; CHEN, A.; ZHANG, W.; WEI, W.; SHENG, R. Impact of Fertilization Regimes on Diazotroph Community Compositions and N² Fixation Activity in Paddy Soil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdã, v. 247, n. esp., p.1-8, set. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.009>>.

TOLLENAAR, M. Is Low Plant Density a Stress in Maize? **Maydica**, Bergamo, v. 37, n. 2, p. 305-311, mar. 1992.

TOLLENAAR, M.; BRUULSEMA, T. W. Efficiency of Maize Dry Matter Production During Periods of Complete Leaf Area Expansion. **Agronomy Journal**, Madison, v. 80, n. 4, p.580-585, jul. 1988. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.2134/agronj1988.00021962008000040008x>>.

TRIPATHI, A.; POHANKOVÁ, E.; FISCHER, M.; ORSÁG, M.; TRNKA, M.; KLEM, K.; MAREK, M. V. The Evaluation of Radiation Use Efficiency and Leaf Area Index Development for the Estimation of Biomass Accumulation in Short Rotation Poplar and Annual Field Crops. **Forests**, Basileia, v. 9, n. 4, p.168-184, mar. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/f9040168>>.

TURNER, T. R.; JAMES, E. K.; POOLE, P. S. The Plant Microbiome. **Genome Biology**, Londres, v. 14, n. 6, p.1-10, jun. 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1186/gb-2013-14-6-209>>.

VACHERON, J.; DESBROSSES, G.; BOUFFAUD, M.; TOURAINE, B.; MOËNNE-LOCCOZ, Y.; MULLER, D.; LEGENDRE, L.; WISNIEWSKI-DYÉ1, F.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Root System Functioning. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 4, n. esp., p.1-19, 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>>.

VILLALBA, G.; HANS, Yi, L. SCHRODER, H.; AYRES, R. U. Global Phosphorus Flows in the Industrial Economy from a Production Perspective. **Journal of Industrial Ecology**, New Haven, v. 12, n. 4, p.557-569, ago. 2008. Disponível em:<. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1530-9290.2008.00050.x>>.

VIRUEL, E.; ERAZZÚ, L. E.; CALSINA, L. M.; FERRERO M. A.; LUCCA, M. E.; SIÑERIZ, F. Inoculation of Maize with Phosphate Solubilizing Bacteria: effect on plant growth and yield. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Santiago, n., p.819-831, dez. 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.4067/s0718-95162014005000065>>.

VORHOLT, J. A. Microbial Life in the Phyllosphere. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 10, n. 12, p.828-840, dez. 2012. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2910>>.

VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of Drought Stress Tolerance in Crops by Plant Growth Promoting Rhizobacteria. **Microbiological Research**, Amsterdã, v. 184, p.13-24, mar. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2015.12.003>>.

YAN, P.; PAN, J.; ZHANG, W.; SHI, J.; CHEN, X.; CUI, Z. A High Plant Density Reduces the Ability of Maize to Use Soil Nitrogen. **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 2, p.1-12, 24 fev. 2017. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0172717>>.

YEOH, Y. K.; PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; DENNIS, P. G.; ROBINSON, N.; RAGAN, M. A.; SCHMIDT, S.; HUGENHOLT, P. The Core Root Microbiome of Sugarcane Cultivated Under Varying Nitrogen Fertilizer Application. **Environmental Microbiology**, Londres, v. 18, n. 5, p.1338-1351, jul. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/1462-2920.12925>>.

YOUSEIF, S. H. Genetic Diversity of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Their Effects on The Growth of Maize Plants Under Greenhouse Conditions. **Annals of Agricultural Sciences**, Cairo, p.1-11, maio 2018. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.aoas.2018.04.002>>.

ZAHID, M.; ABBASII, M. K.; HAMEED, S.; RAHIM, N. Isolation and Identification of Indigenous Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Himalayan Region of Kashmir and Their Effect on Improving Growth and Nutrient Contents of Maize (*Zea mays* L.). **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 6, n. esp., p.1-10, mar. 2015. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.00207>>.