



**DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MILHO INOCULADOS COM  
ESTIRPES DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E SUBSTÂNCIAS  
HÚMICAS**

**ANNE JUCIELY VIEIRA BARBOSA**

**2018**

**ANNE JUCIELY VIEIRA BARBOSA**

**DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MILHO INOCULADOS COM  
ESTIRPES DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E SUBSTÂNCIAS  
HÚMICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. D.Sc. Joilson Silva Ferreira  
Coorientador: Prof. D.Sc Vera Lúcia Divan Baldani

VITÓRIA DA CONQUISTA – BA  
BAHIA – BRASIL  
2018

B195d

Barbosa, Anne Juciely Vieira.

Desempenho de genótipos de milho inoculados com estirpes de bactérias diazotróficas e substâncias húmicas. / Anne Juciely Vieira Barbosa, 2018.

59f. : il.

Orientador (a): D. Sc. Joilson Silva Ferreira.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia. Vitória da Conquista, 2018.

Inclui referência F. 49 - 59.

1. *Zea mays* L. 2. Cultura do milho – Aspectos gerais. 3. Bactérias promotoras de crescimento vegetal. 4. Fixação biológica. I. Ferreira, Joilson Silva. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. T
- CDD. 633.15

*Catálogo na fonte: Juliana Teixeira de Assunção – CRB 5/1890*  
UESB – Campus Vitória da Conquista – BA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
*Área de Concentração em Fitotecnia*

*Campus de Vitória da Conquista - BA*

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título: "DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MILHO INOCULADOS COM ESTIRPES DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E SUBSTÂNCIAS HÚMICAS"**

**Autor: Anne Juciely Vieira Barbosa**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela Banca Examinadora:

  
Prof. Joilson Silva Ferreira, D.Sc., UESB  
Presidente

  
Profa. Patrícia Anjos Bittencourt Barreto-Garcia, D.Sc., UESB

  
Pesq. Paulo Henrique Marques Monroe, D.Sc., PNP/DCAPES

Data de realização: 31 de julho de 2018.

Estrada do Bem Querer, Km 4 – Caixa Postal 95 – Telefone: (77) 3425-9383 – Fax: (77) 3424-1059  
Vitória da Conquista – BA – CEP: 45031-900

Aos meus pais José Vieira, Eurides Barbosa e minha irmã Cristiane Vieira.

Aos meus amigos.

**Dedico**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela vida, saúde e força para perseguir meus sonhos. Ele, fonte de minha fé e a Nossa Senhora Aparecida, por sempre interceder por minhas preces.

Aos meus pais, José Vieira e Eurides Barbosa, que nunca mediram esforços para sonhar e realizar todos os meus sonhos. Esta vitória é de vocês.

À minha irmã Cristiane Vieira, amiga, companheira, confidente. Não sei expressar em palavras meu amor por você.

Ao professor orientador Joilson Ferreira, por todo apoio!

À banca examinadora pelo tempo dedicado.

Aos meus amigos de Rondônia, Alex e Roberlan. Este trabalho não seria possível sem a colaboração de vocês. Obrigada por toda ajuda! Torço pela realização profissional de ambos, amo vocês.

Ao laboratório de Microbiologia do solo, na pessoa do professor Divino Levi. Divino, obrigada pelo apoio, pelo espaço, pelas conversas e conselhos durante esse período.

Aos amigos de laboratório, Joelma Santos, Carol Chaves, Rayka Santos, pela paciência em transmitir o conhecimento.

Aos amigos que fiz em Jaboticabal - SP pela experiência única que me acompanhará por toda vida. Ao professor Arthur Bernardes pela paciência e exemplo profissional que é, e pela amizade depreendida. A República Coronelas, em especial a Bárbara Maressa, Malintza Vargas e Bianca Lourenço, vocês são parte de tudo de bom que eu vivi na UNESP e levarei sempre comigo, amo vocês.

À Diretoria de Campo Agropecuário (DICAP), pela colaboração e apoio técnico, em especial, Rita, Eduardo Ganem e Maurício Soares. E aos colaboradores do campo experimental, pela ajuda na condução dos experimentos, em especial, Carlos (Dui), Sr. Manoel, Márcio, Adriano e João Gordo. Aos amigos de pós-graduação, em especial Thays Santana,

Anne Cangussu, André Felipe, Bismark, Breno Rosa, Renan, Patrick, Suziane pela amizade.

À Bruna Lira, pessoa que não mede esforços para ajudar-me, eu não sei o que seria sem você, Nenis.

Às Gracy's que me acolheram desde o início, pessoas excepcionais que me direcionaram ao melhor que eu posso ser, as resenhas na academia, as dietas e saídas de dieta - Karina Rego e Janaina Ramos vocês sempre terão um lugar no meu coração, amo vocês.

Às minhas amigas de apartamento, Samantha e Marina e também à dona Erinha, minha gratidão eterna. Obrigada pelas orações, paciência quando não estou bem e, pelo colo nos momentos de choro. A minha vizinha querida, Monielly, pelos papos das madrugadas e as caminhadas esporádicas, agradeço o carinho.

Aos amigos de Universidade (UESB), Lorena, Henan Crisóstemo, Rafael Oliveira, Vinicius Galindo, João Henrique, Elvis, Paula Acácia, Mariana Beatriz e todos pelos momentos extra classe, obrigada!

Por fim, agradeço aos mestres da pós-graduação em Agronomia da UESB, em especial a Ramon Vasconcelos, Alcebíades Rebouças e Adriana, pelos conhecimentos transmitidos.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

E a todos que contribuíram diretamente e indiretamente para a realização do mesmo, minha gratidão.

*Vim, me preparei, estudei, me equivoquei, corriji o equívoco e, enfim,  
venci.*



## RESUMO GERAL

BARBOSA, Anne Juciely Vieira. **DESEMPENHO DE GENÓTIPOS DE MILHO INOCULADOS COM ESTIRPES DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**. Vitória da Conquista – BA: UESB, 2018. (Dissertação – Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).\*

O milho é uma das mais atividades econômicas mais importantes do agronegócio brasileiro devido às suas várias formas de utilização, que vão desde alimentação humana, animal e usos industriais, bem como a sua importância em termos sociais. A inoculação de isolados de bactérias diazotróficas associado a substâncias húmicas são alvos de pesquisas uma vez que as plantas apresentam resposta à aplicação tanto no desenvolvimento vegetal quanto na produção agrícola. Objetiva-se estudar o efeito da associação de isolados nativos de bactérias diazotróficas e substância húmica em genótipos de milho cultivado em Vitória da Conquista - BA. Os ensaios foram realizados em área aberta da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia em vasos e em campo experimental. O primeiro ensaio foi conduzido em esquema fatorial 5x2x2, sendo o primeiro fator isolados nativos *Herbaspirillum frisingense* (J9), um isolado de *Azospirillum brasilense* (N11), o inóculo J15 com características semelhantes à *Herbaspirillum spp* e uma estirpe *Herbaspirillum spp* (Z94) e ausência de inoculação; ausência e presença de substância húmica, em dois genótipos de milho, o híbrido AG 1051 e a variedade Al Bandeirante, disposto em DIC, com 6 repetições. O segundo ensaio foi em condições de campo, repetindo os mesmos tratamentos, em DBC. As variáveis avaliadas para o ensaio de vaso foram altura de plantas, diâmetro de colmo, massa fresca e seca das do sistema radicular e da parte aérea, N-Total e índice SPAD, realizadas aos 35 e 65 dias após a semeadura. Para o ensaio em campo, as variáveis foram comprimento e diâmetro de espiga, massa de mil grãos e produtividade estimada. O primeiro ensaio expressou resposta significativa aos 35 dias para as variáveis matéria fresca da parte aérea e sistema radicular e matéria seca das raízes em função da presença de substância húmica e interação de inóculo e genótipo, enquanto que para a avaliação aos 65 dias a resposta dos tratamentos foram significativas a matéria fresca da parte aérea e raiz, índice SPAD e N (g/kg) para os mesmo fatores. O experimento em campo respondeu significativamente em função da diferença genética entre as cultivares utilizadas, apenas a massa de cem grãos teve resposta dependente da presença de substância húmica e inoculação de isolados de bactérias diazotróficas. A resposta da interação bactérias diazotróficas associada à substância húmica em híbrido de milho nas condições estudadas apresentou

---

\*Orientador: Joilson Silva Ferreira, D.Sc., UESB

\*Coorientador: Vera Lúcia Divan Baldani, D.Sc, EMBRAPA Agrobiologia.

resultados positivos com o incremento de massa de matéria fresca da parte aérea e sistema radicular, bem como na massa de grãos o que beneficia a produtividade.

**Palavra-chave:** *Zea mays* L., bactérias promotoras de crescimento vegetal, fixação biológica, *Azospirillum spp.*

## ABSTRACT

BARBOSA, Anne Juciely Vieira. **PERFORMANCE OF MAIZE GENOTYPES INOCULATED WITH STRAINS OF DIAZOTROPHIC BACTERIA AND HUMIC SUBSTANCES.** Vitória da Conquista – BA: UESB, 2018. (Dissertação – Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).\*

Maize is one of the most important economic activities of Brazilian agribusiness due to its various uses, ranging from human food, animal and industrial uses, as well as its importance in social terms. The inoculation of diazotrophic bacteria isolates associated with humic substances are the subject of research since the plants respond to the application in plant development and agricultural production. The objective of this work was to study the effect of the association of native isolates of diazotrophic bacteria and humic substance in maize genotypes grown in Vitória da Conquista – BA. The tests were carried out in open area of the State University of Southwest of Bahia in pots and experimental field. The first test was conducted in a 5x2x2 factorial scheme, the first factor being isolated native *Herbaspirillum frisingense* (J9), an isolate of *Azospirillum brasilense* (N11), the inoculum J15 with characteristics similar to *Herbaspirillum spp*, a strain *Herbaspirillum spp* (Z94) and absence of inoculation, and absence and presence of humic substance, in two genotypes of maize, the hybrid AG 1051 and the variety Al Bandeirante, arranged in DIC, with 6 replicates. The second test was under field conditions, repeating the same treatments, in DBC. The variables evaluated for the potting test were plant height, stem diameter, fresh and dry mass of the root system and shoot, N-total and SPAD index, performed at 35 and 65 days after sowing. For the field trial, the variables were length and ear diameter, mass of one thousand grains and estimated productivity. The first test showed a significant response at 35 days for fresh matter of shoot and root system and dry matter of roots due to the presence of humic substance and interaction of inoculum and genotype, while for the evaluation at 65 days the response of treatments were significant fresh matter of shoot and root, index SPAD and N (g/kg) for the same factors. The experiment in the field responded significantly due to the genetic difference between the cultivars used, only the mass of 100 grains had a response dependent on the presence of humic substance and inoculation of isolates of diazotrophic bacteria. The response of the diazotrophic bacteria interaction associated with the humic substance in maize hybrids in the studied conditions presented positive results with the increase of fresh matter mass and the aerial part, and root system, as well as in the grain mass, which benefits the productivity.

---

\*Orientador: Joilson Silva Ferreira, D.Sc., UESB

\*Coorientador: Vera Lúcia Divan Baldani, D.Sc, EMBRAPA Agrobiologia.

**Key words:** *Zea mays* L., plant growth promoting bacteria, biological fixation, *Azospirillum spp.*

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Índices meteorológicos de dezembro de 2017 a maio de 2018.....32

**Figura 2.** Densidade de frequência de grãos em relação a diferentes classes de peso do híbrido de milho AG1051 em presença de substância húmica; inoculação com isolados de bactéria diazotróficas + substância húmica e tratamento testemunha.....46

**Figura 3.** Densidade de frequência de grãos em relação a diferentes classes de peso do híbrido de milho variedade Al Bandeirante em presença de substância húmica; inoculação com isolados de bactéria diazotróficas + substância húmica e tratamento testemunha.....47

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Composição química do produto fertilizante comercial contendo Substâncias Húmicas.....30

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância dos dados obtidos para as variáveis de massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca do sistema radicular (MFSR) e massa seca sistema radicular (MSSR), submetidas à inoculação de isolados de bactérias diazotróficas e substância húmica nos genótipos de milho AG 1051 e AL Bandeirante, avaliados aos 35 dias após a semeadura (DAS).....36

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância dos dados obtidos para as variáveis de massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca do sistema radicular (MFSR) e Índice SPAD (SPAD), nitrogênio g/kg (N g/kg) submetidas à inoculação de bactérias diazotróficas e substância húmica em dois genótipos de milho, avaliados aos 65 dias após a semeadura (DAS)...37

**Tabela 4.** Média da variável massa fresca da parte aérea (MFPA) em função da ausência e presença de substância húmica, aos 35 dias após semeadura (DAS) .....37

**Tabela 5.** Desdobramento da interação entre genótipos de milho híbrido AG 1051 e variedade AL Bandeirante com presença e ausência de inoculação de isolados de bactéria diazotróficas da variável matéria fresca da parte aérea (MFPA) e matéria fresca do sistema radicular (MFSR), aos 35 dias após semeadura (DAS) .....38

**Tabela 6.** Média das variáveis índice Spad (SPAD) e nitrogênio total (N g/kg<sup>-1</sup>) em função da presença e ausência de substância húmica, aos 65 dias após semeadura (DAS) .....40

**Tabela 7.** Desdobramento da interação entre presença e ausência de substância húmica (SH) e inóculos de bactérias diazotróficas e ausência de inoculo da variável matéria fresca da parte aérea (MFPA), aos 65 dias após semeadura (DAS) .....42

**Tabela 8.** Média da variável massa seca do sistema radicular (MSSR) dos genótipos de milho híbrido AG 1051 e variedade AI, aos 35 e 65 dias após semeadura (DAS).....43

**Tabela 9.** Resumo da análise de variância dos dados obtidos em experimento a campo para as variáveis de diâmetro de espiga (DE), comprimento de espiga (CE), massa de mil grãos (1000G) e produtividade estimada (PE), submetidas à inoculação de isolados de bactérias diazotróficas associada à presença e ausência de substância húmica em dois

genótipos de milho AG 1051 e Al  
Bandeirante.....43

**Tabela 10.** Média das variáveis diâmetro de espiga (DE), comprimento de  
espiga (CE), massa de mil grãos (1000G) e produtividade estimada (PE) dos  
genótipos AG 1051 e variedade Al Bandeirante.....45

## LISTA DE ABREVIATURAS

AF – Ácido Fúlvico

AH – Ácido Húmico

AIA – Ácido Indol acético

ATP – Adenosina trifosfato

BDE – Bactérias Diazotróficas endofíticas

BPCV – Bactérias Promotoras de Crescimento Vegetal

Ca – Cálcio

Cd – Cádimo

CE – Comprimento de espiga

CTC – Capacidade de Troca Catiônica

Cu - Cobre

DAS – Dias após a semeadura

DE – Diâmetro de espiga

Fe - Ferro

Hg - Mercúrio

HU - Humina

MFPA – Matéria fresca da parte aérea

MFSR – Matéria fresca do sistema radicular

MOS – Matéria Orgânica do Solo

MP – Membrana Plasmática

MSSR – Matéria seca do sistema radicular

N - Nitrogênio

Ni - Níquel

P - Fósforo

PAL – Fenilalanina amônia-liase

Pb – Chumbo

PE – Produtividade estimada

rpm – rotação por minuto

SH – Substância húmica



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	19
<b>2.1 Aspectos gerais da cultura do milho</b> .....	19
<b>2.2 Microrganismos promotores de crescimento vegetal e fixação biológica de nitrogênio</b> .....	21
<b>2.3 Substâncias húmicas</b> .....	23
<b>2.4 Substâncias húmicas associadas à bactérias diazotróficas</b> .....	25
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
<b>3.1 Descrição do local de desenvolvimento dos experimentos</b> .....	28
<b>3.2 Obtenção e multiplicação do inóculo; preparo do inoculante turfoso contendo bactérias diazotróficas; material genético e substância húmica</b> .....	28
<b>3.3 Avaliação da parte vegetativa de genótipos de milho</b> .....	30
<b>3.3.1 Delineamento do experimento</b> .....	31
<b>3.3.2 Implantação dos experimentos</b> .....	32
<b>3.3.3 Variáveis Analisadas</b> .....	33
<b>3.3.4 Análise Estatística dos dados</b> .....	34
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	35
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	48
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	49

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de milho (*Zea mays L.*) é uma das atividades econômicas mais importantes do agronegócio brasileiro devido às suas várias formas de utilização, que vão desde alimentação humana, animal e usos industriais, bem como a sua relevância em termos sociais e econômicos. Em termos da produção o Brasil ocupa o posto de terceiro maior produtor mundial de milho, perdendo para Estados Unidos e China com produção de 384 e 219 milhões de toneladas respectivamente, de acordo com USDA (2018).

No cenário nacional a produção estimada para o milho safra e safrinha é de 83 milhões de toneladas para a safra 2017/2018, tendo lugar de destaque na balança comercial brasileira, estando atrás em produção apenas da soja que é o grão mais produzido no país, com produção estimada de 118,9 milhões de toneladas para esta mesma safra (CONABa, 2018).

Para atender a maior demanda desse grão, alternativas deve ser tomado, entre elas, o aumento da produtividade das áreas já cultivadas. Para isso, é necessário investimento em tecnologias como o melhoramento genético, aumento de disponibilidade de nutrientes e manejo adequado que visem manter a fertilidade do solo e a nutrição da planta (MARIN, 2012).

Dentre os nutrientes primários para o desenvolvimento vegetal do milho, o nitrogênio é um dos mais importantes, por suas funções na produção e síntese de aminoácidos (HAVLIN e outros, 2005). Entretanto, a fonte utilizada para obtenção do N através do uso indiscriminado de fertilizantes químicos acarreta em desequilíbrio ambiental, além de onerar os custos de produção.

Com o intuito de minimizar as consequências causadas ao meio ambiente, tal como reduzir os custos de produção, pesquisas voltadas a práticas conservacionistas vem sendo desenvolvidas por diversas instituições

de ensino. O uso de substâncias húmicas, inoculação biológica de sementes com organismos fixadores de nitrogênio, bem como a associação destas técnicas são alvos dessas pesquisas.

A prática da inoculação de sementes com microrganismos fixadores de nitrogênio objetiva disponibilizar nitrogênio atmosférico à planta através da quebra da tripla ligação de  $N_2$  (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006), essa ação é considerada ecologicamente correta, pois não há perdas por processos de volatilização, lixiviação e desnitrificação do  $NH_3$  utilizado. O uso de substâncias húmicas propicia o aumento da microbiota do solo, incorpora matéria orgânica, promove o crescimento radicular e ciclagem de nutrientes, promovendo o crescimento vegetal e aumento da produção (COOPER e outros, 1998).

A associação de bactérias fixadoras de nitrogênio e substâncias húmicas atua no aumento da população de microrganismos introduzido na planta e conseqüentemente incrementar os efeitos benéficos como crescimento vegetal, absorção de água e nutrientes, aumento no número de sítios mitóticos e maior desenvolvimento do sistema radicular da planta hospedeira.

Diante do exposto, objetivou-se estudar o efeito da associação de substância húmica e isolados nativos de bactérias diazotróficas na estimulação do crescimento vegetal e produção de dois genótipos de milho, nas condições edafoclimáticas de Vitória da Conquista – BA.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos gerais da cultura do milho

Classificado como pertencente à família das *Poaceas*, tribo *Maydeae*, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L., o milho possui muitas hipóteses quanto a sua origem, a de maior confiabilidade é que o milho é descendente do teosinte, uma gramínea com várias espigas sem sabugo e que faz cruzamento natural com milho, resultando em descendentes férteis (BELLIDO, 1991). É uma planta anual, monocotiledônea. Sua importância econômica é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vai desde alimentação animal até a indústria de alta tecnologia. Seu uso na alimentação animal representa a maior parte do consumo, na alimentação humana é caracterizado principalmente por derivados (DEMÉTRIO e outros, 2008).

Após domesticação a mais ou menos 8.000 anos, o milho não é mais capaz de sobreviver em sua forma selvagem, pois os alelos que controlam a morfologia da planta e qualidade nutricional do grão foram fixados, foram moldados construindo uma espécie através da seleção de características desejáveis. Todo esses oito processos produziram um grande número de genótipos, com diversas características morfofisiológicas, tornando a espécie adaptada a vários ambientes (BUCKLER e outros, 2006).

Verifica-se através dos dados de Pereira Filho e Borghi, (2016) que na safra 2016/2017 o mercado de sementes ofertou 477 cultivares de milho (101 convencionais + 370 com algum nível de transgenia). Desse total, 57% foram híbridos simples, juntando aos triplos foram cerca de 77%.

Os genótipos híbrido duplo AG 1051 e variedade AI bandeirante tem grande aceitação pelos produtores locais devido a adaptabilidade às condições climáticas e nível tecnológico adotado.

O genótipo AG 1051 é um híbrido duplo, ideal para produção de grão, devido à sua produção eficaz; é indicado para silagem da planta que apresenta alta qualidade e para consumo do milho verde. É uma planta de ciclo semiprecoce, porte alto, sistema radicular fasciculado bem desenvolvido, apresenta grãos dentados amarelos e boa qualidade de colmo. Pode ser cultivado no verão, e no período de safrinha e possui flexibilidade de plantio em todas as regiões do Brasil, indicado para médio nível tecnológico (AGROCERES, 2018).

A variedade AL Bandeirante foi desenvolvida pela CATI-SP; é uma planta de ciclo semiprecoce, ideal para grão e silagem; de uma boa adaptabilidade às condições climáticas de todo o Brasil. Possui porte alto e um baixo índice de acamamento. É recomendada para solos de baixa à alta fertilidade, apresenta alta rusticidade e sementes de baixo custo. O grão possui cor amarelo-alaranjada, é semiduro, possui boa resistência às principais doenças; pode ser cultivada tanto na safra normal como na safrinha, indicado para baixo nível tecnológico (CATI, 2018).

Ainda que alterações genéticas tenham sido realizadas com o objetivo de melhorar o desempenho agrônomo, a nutrição da cultura do milho é o fator limitante da produtividade. A cultura do milho apresenta um dos melhores desempenhos em relação à adubação com fontes orgânicas, principalmente quando são usados biofertilizantes provindos de compostagem orgânica e húmus de minhoca, que promove ao final um relativo aumento da produtividade e na CTC do solo (SANTOS, 1992).

Segundo Veloso e outros, (2006) o milho necessita de 18 a 20 kg de N para produzir uma tonelada de grãos. As exigências em N dependem também dos estádios fisiológicos da planta, sendo maior em demanda de nitrogênio durante o crescimento vegetativo, de florescimento e de formação de grãos (SOUZA e outros, 2001).

A simbiose realizada pelas bactérias diazotróficas no processo de fixação biológica do nitrogênio beneficia a cultura do milho, reduzindo gastos e impactos ao meio ambiente, visto que é um processo natural

realizado por bactérias que habitam o solo, que convertem o nitrogênio atmosférico em amônio assimilável pelas plantas (DOTTO e outros, 2010).

## **2.2 Microrganismos promotores de crescimento vegetal e fixação biológica de nitrogênio**

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) é um grupo de microrganismos capaz de colonizar superficial ou endofiticamente o sistema radicular das plantas e melhorar de forma direta e indireta seu crescimento e produção (WU e outros, 2005).

Embora ainda pouco elucidado, os mecanismos de ação das BPCV podem ser classificados como biofertilização, através da solubilização de fosfato (ALIKHANI e outros, 2007), produção de sideróforos (BATISTA e outros, 2016), exopolissacarídeos (SILVI e outros, 2013), fixação biológica de nitrogênio (Gray and Smith, 2005); fitoestimulação, mediante a produção de citocinina, etileno, giberelina e ácido indol acético (VAN LOON, 2007) e controle de patógenos, por meio da produção de antibióticos, compostos voláteis (ONGENA e outros, 2005) e indução de resistência sistêmica (INNEREBNER e outros, 2011).

As principais BPCP são encontradas nos gêneros *Acinetobacter*, *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Azomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Ralstonia*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Variovorax*, *Xanthomonas*, entre outros (SOUZA e outros, 2015; AHEMAD e KIBRET, 2014).

Dentre as mais diversas BPCV, os gêneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum* e *Azospirillum* tem sido encontrado em associação com espécies de gramíneas forrageiras e grão (HUNGRIA e outros, 2010; VIDEIRA e outros, 2012). Entre esses gêneros, o *Herbaspirillum spp* e

*Azospirillum spp* constituem os mais bem estudados (HUNGRIA e outros, 2010; AMARAL e outros, 2014) por induzir o crescimento radicular e melhorar a absorção de água e nutrientes pelas plantas (DOORNBOS e outros, 2012). E possuem capacidade de fixar biologicamente o nitrogênio em espécies não leguminosas (HUNGRIA e outros, 2010; FERREIRA e outros, 2011).

O gênero de bactérias *Azospirillum spp* são microaerófilas, móveis em meio de cultivo, flagelo polar bem desenvolvido e, quando cultivadas em ágar a 30 °C, apresentam desenvolvimento de flagelos laterais (TARRAND e outros, 1978). As espécies desse grupo colonizam tanto o interior quanto as superfícies das raízes de diversas plantas não leguminosas; são denominadas de diazotróficas endofíticas facultativas e ainda são capazes de sobreviver no solo em forma de cistos (BALDANI e outros, 1997).

Com base em diversos estudos, verifica-se que a inoculação com espécies de *Azospirillum spp* para a produtividade do milho, tem mostrado resultados contrastantes (HUNGRIA e outros, 2010; REPKE e outros, 2013; QUADROS e outros, 2014). Repke e outros, (2013) verificaram que a aplicação de *A. brasilense* via solução nas sementes, acompanhada ou não de doses de nitrogênio sintético, não interferiu no desenvolvimento de plantas e na produtividade da cultura do milho. Por outro lado, Hungria e outros, (2010) avaliaram o uso de *A. brasilense* sobre o milho e encontraram um aumento de 27% na produtividade em relação ao controle sem inoculação. Quadros e outros (2014), avaliando a produtividade de três híbridos de milho inoculados com uma mistura de três espécies de *Azospirillum* (*A. brasilense*, *A. lipoferum* e *A. oryzae*), verificaram uma interação entre os híbridos e inoculação, tendo obtido aumento significativo de produtividade apenas para o híbrido de milho P32R48, com incremento 750 kg/ha<sup>-1</sup>.

As bactérias diazotróficas do gênero *Herbaspirillum spp* são gram-negativas, microaeróbicas, móveis e se desenvolvem em uma faixa de pH de 5,3 a 8,0, caracterizadas por apresentarem maior especificidade de interação, uma vez que são endófitos obrigatórios com baixa sobrevivência no solo. A

primeira espécie identificada desse gênero foi a *H. seropedicae* (BALDANI e outros, 1986).

A sobrevivência da *H. seropedicae* foi observada e isolada em diversas culturas como raízes de milho (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa*), sorgo (*Sorghum bicolor*), cana-de-açúcar (híbridos interespecíficos de *Saccharum*) e espécies tropicais, como a bananeira (*Musa spp.*) e abacaxizeiro (*Ananas comosus*) (BALDANI e outros, 1986; PIMENTEL e outros, 1991; CRUZ e outros, 2001).

Diversos trabalhos demonstram a contribuição da *H. seropedicae*, nas culturas do arroz e milho, houve incremento de produção de grãos (FERREIRA e outros, 2011; BREDA e outros, 2016; ARAUJO e outros, 2015; DARTORA e outros, 2013) e na cana de açúcar e capim elefante os efeitos que destacaram foram o desenvolvimento vegetativo (MATOSO e outros, 2016; SANTANA, 2017).

### **2.3 Substâncias húmicas**

A matéria orgânica no solo pode ser encontrada de diversas formas, estados de decomposição e quantidade. Sob ponto de vista químico, é toda substância que apresenta em sua composição carbono tetravalente, tendo suas quatro ligações completadas por carbono, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e outros elementos, incluindo substâncias microbiologicamente e/ou quimicamente alteradas (SILVA e outros, 2000).

Constituente da matéria orgânica do solo (MOS), as substâncias húmicas (SH) são o produto de misturas complexas e heterogêneas de materiais formados por reações químicas e bioquímicas durante a decomposição e transformação de restos vegetais, animais e microbianos, denominado de humificação. Composta por ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e humina (HU), apresentam solubilidade em meios ácidos e alcalinos devido a grupos funcionais (BALDOTTO e outros, 2014).



O fracionamento químico destes compostos pode ser realizado por ionização com extratores alcalinos, que permite a solubilização dos grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, já a acidificação promove apenas a precipitação dos AH, por ser menos polar que a fração AF. A HU representa a fração orgânica insolúvel, é remanescente da extração dos AH e AF, não sendo extraída separadamente (IHSS, 2018; PICCOLO, 2001; SUTTON e SPOSITO, 2005).

As SH formam complexos específicos com cobre ( $\text{Cu}^{++}$ ), manganês ( $\text{Mn}^{++}$ ), zinco ( $\text{Zn}^{++}$ ) e alumínio ( $\text{Al}^{++}$ ), e não específicos com cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) e cádmio ( $\text{Cd}^{++}$ ), aumentando a mobilidade de íons, troca de cátions (CTC) e ânions do solo. Atua em amplas faixas de pH, conferindo a característica tamponante, mantendo o equilíbrio da solução do solo. Na fração solúvel AF, complexa com compostos orgânicos, deslocando-se para partes inferiores do perfil do solo pela ação da água, melhorando a estrutura, porosidade e densidade do mesmo, o que aumenta a capacidade de armazenamento de água no solo (CANELLAS e SANTOS, 2005; ROCHA e ROSA, 2003).

Nas plantas, efeitos fisiológicos e metabólicos são atribuídos ao uso SH (CANELLAS e outros, 2002; ZANDONADI e outros, 2006), como o incremento no peso e tamanho do sistema radicular, acúmulo de nitrogênio (N), fósforo (P), ferro (Fe) e cobre (Cu) absorvido, devido a redução à formas assimiláveis pelas plantas por ação dos grupos fenólicos, quinonas e semiquinonas presentes nos AH (ADANI e outros, 1998; BALDOTTO e outros, 2007; BORCIONI e outros, 2016), desenvolvimento de pêlos radiculares e radículas, aumentando a superfície de contato com a solução do solo (CANELLAS e outros, 2006; OLIVEIRA AGUIAR e outros, 2009) e expansão celular que induz o crescimento vegetal de espécies de interesse agrônomo (TEJADA e GONZALEZ, 2004; DELFINE e outros, 2005; FERRARA & BRUNETTI, 2008).

O efeito estimulatório no sistema radicular é associado à interação com as SH, quando uma fração húmica de baixa massa molecular – ácido

fúlvico – acumula-se no apoplasto e atinge a membrana plasmática, induzindo alterações morfo funcionais na arquitetura da raiz (QUAGGIOTTI, e outros, 2004). O aumento nas atividades de síntese da H<sup>+</sup>-ATPase da membrana plasmática (MP) isoladas tem sido condicionada a ação hormonal do tipo auxínica promovida por SH isoladas de diferentes fontes de MO (CANELLAS e outros, 2002; ZANDONADI e outros, 2006).

Trabalhos realizados com SH têm apresentado resultados satisfatórios em várias culturas, proporcionando melhor desenvolvimento vegetativo de abacaxi (SANTOS e outros, 2014) e uma melhor formação da copa de goiaba (NUNES e outros, 2014).

A produção de matéria seca de milho (*Pennisetum glaucum*) aumentou em 28,25% e 112,85% a massa seca do sistema radicular na dose de 30 mg.L<sup>-1</sup> de SH. Silva e outros, (2000a) relataram o aumento nos teores no grão de aveia preta de P em 123%; K em 35,54%, Ca em 62,71%, N em 63% e diminuiu a quantidade de Ni, Pb, Cd e Hg em 54,88%, 30,19%, 54,06% e 28,57% respectivamente, devido seu poder de complexação de metais pesados. Em outro trabalho o mesmo autor observou o incremento da parte aérea em 289,71% de alface cultivar *Aurélia*, em presença de SH. (SILVA e outros, 2000b)

É fundamental determinar em que características morfológicas das plantas (incluindo os genótipos) que se desejam incrementos, quais são as doses de maior eficiência dos ácidos húmicos, e de que fonte os ácidos húmicos devem ser extraídos a fim de assegurar o sucesso do uso deste bioestimulante (BALDOTTO e BALDOTTO, 2014).

#### **2.4 Substâncias húmicas associadas à bactérias diazotróficas**

Estudos com bactérias diazotróficas endofíticas (BDE) associadas a substâncias húmicas (SH) ainda são em baixo número apesar do enorme potencial já comprovado, como o incremento na produção agrícola,

mitigação do efeito de estresse de planta e proteção de microrganismos, promovidos por estes insumos biológicos (OLIVARES e outros, 2017).

As principais alterações morfológicas que ocorrem nas plantas atribuídas à associação de BDE – SH são o aumento da emergência de raízes laterais, densidade e comprimento de pelos radiculares, formação e liberação de células de borda, proporcionando assim, maior área superficial de contato para a fixação de bactérias. Tal alteração permite aumento da população associado à planta, devido ao aumento do número de aberturas ao longo da parede das membranas (FRANKENBERGER e outros, 1995; CASIMIRO e outros, 2003; NIBAU e outros, 2008; TREVISAN e outros, 2011; DRIOUCH e outros, 2013).

Em termos fisiológicos, as modificações oscilam entre o aumento de quantidade e diversidade de compostos exsudados, estimulação da membrana plasmática  $H^+$ -ATPase, liberação de compostos de ação semelhante às auxinas e absorção de nutrientes como N, P, K, Ca e Mg (RAYLE e outros, 1992; LIMA e outros, 2014; RAMOS e outros, 2015).

O primeiro experimento usando a aplicação de BDE juntamente com SH foi realizado em semente de cana de açúcar, os principais resultados encontrados foram à melhoria das raízes em comprimento (de 60 a 118%) e área superficial (33 a 233%) dos tratamentos em relação ao controle (MARQUES JÚNIOR e outros, 2008). Entretanto, a metodologia empregada envolvia o tratamento térmico das sementes de cana de açúcar, o que limita a esse tipo de inoculação dada a produção em larga escala, chegando a 9 milhões de  $ha^{-1}$  no ano anterior (CONAB, 2018b)

A aplicação foliar de soluções de BDE - SH em cana de açúcar foi então adotada como método de inoculação, sendo superior a aplicação em sulco. A aplicação 60 dias após a emergência da planta teve um rendimento 37% superior comparado ao tratamento controle (SILVA e outros, 2017). Sob condições adversas de estresse hídrico, a inoculação de bactérias combinada com ácidos húmicos (AH) extraído de compostagem promoveu efeito positivo na mitigação de danos causados pelo estresse abiótico, dado

que, AH induz a atividade de enzimas antioxidantes, enquanto a BDE induz o fechamento dos estômatos, preservando o potencial hídrico e o teor relativo de água (TRA), promovendo a preservação da água nas plantas (AGUIAR e outros, 2016).

Em feijão comum (*Phaseolus vulgaris L*), plantas co-inoculadas com *Rhizobium tropici* na presença de SH submetidas ao estresse hídrico apresentaram resultados qualitativos semelhantes ao da cana de açúcar. O teor relativo de água, número e massa de nódulos foram maiores em plantas com o tratamento co-inoculado, assim como a atividade da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), o que proporcionou melhor recuperação das plantas após o estresse (DA PIEDADE MELO e outros, 2017).

A cultura do milho foi também avaliada quanto à inoculação associada à SH, os resultados foram o aumento do crescimento das raízes, massa de matéria fresca, 44% e 26% respectivamente, em relação ao controle, em plântulas com sete dias após a semeadura (CONCEIÇÃO e outros, 2008). Em campo, a produção de grãos foram 65% maior em plantas que receberam aplicação por pulverização foliar de BDE – SH, no estágio v6 de desenvolvimento, além de apresentarem maior sistema radicular, alterações no metabolismo de carboidratos e nitrogênio (N), resultando em um processo fotossintético mais eficiente em condições de baixa N, sugerindo um efeito sinérgico entre BDE e as SH (CANELLAS e outros, 2017).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição do local de desenvolvimento dos experimentos

O estudo foi conduzido em área Experimental do *Campus* da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, em Vitória da Conquista, localizado no Sudoeste do Estado da Bahia, a 14° 51' latitude Sul, 40° 50' longitude oeste, a 928 metros de altitude. O clima dessa região é classificado como Tropical de altitude, em que a temperatura média anual é de 19,5 °C, com precipitação pluviométrica que oscila entre 700 e 1000 mm anuais, de acordo com Köppen (1936), tendo como período mais chuvoso os meses de novembro a março.

#### 3.2 Obtenção e multiplicação do inóculo; preparo do inoculante turfoso contendo bactérias diazotróficas; material genético e substância húmica

Foram utilizados três isolados nativos com características semelhantes a bactérias do gênero *Herbaspirillum spp.* e *Azospirillum spp.*, a saber: três isolados nativos, sendo um isolado de *Herbaspirillum frisingense* (J9), um isolado de *Azospirillum brasilense* (N11) identificados por Sousa (2017), e o inóculo J15 ainda não identificado, todos isolados por Santos (2013), e uma estirpe de *Herbaspirillum seropédica* (ZAE94), cedida pela EMBRAPA Agrobiologia.

Os isolados utilizados como inoculantes foram multiplicadas em 5 mL de meio DYGS durante 24 horas sob agitação de 150 rpm e temperatura de 30°C. Posteriormente, uma alíquota de 100 µL de cada cultura com uma densidade ótica ( $D.O_{600}=1$ ) foi adicionada a erlenmeyers de 250 mL contendo 25 mL de meio DYGS e os inóculos foram cultivados durante 24 horas sob agitação de 150 rpm e temperatura de 30°C. O número de células viáveis foi determinado pelo método da diluição seriada em placas contendo meio sólido DYGS.

Em sequência, os isolados com uma população estabelecida de  $10^9$  células  $g^{-1}$  foram homogeneizadas em veículo turfoso, acondiciona em estufa bacteriológica de circulação de ar (SL 101), em temperatura de  $30^{\circ}C$ . Após 72 horas, o material turfoso contendo os isolados de inoculante foi adicionado às sementes dos genótipos de milho, na proporção de 250g de inoculante para 10 kg de semente de milho (ALVES, 2007). Para homogeneizar o experimento, o material turfoso esterilizado, foi adicionado às sementes na proporção de 25g de turfa para cada quilo de semente (25g/kg de semente), nos tratamentos sem inoculação.

A escolha do material genético levou em consideração o uso por produtores locais, que, de acordo o nível tecnológico tem preferência pelos genótipos de milho híbrido AG 1051 e a variedade AL Bandeirante.

A substância húmica utilizada no experimento foi adquirida comercialmente, utilizando o fertilizante químico descrito na Tabela 1, conforme análise química realizada pelo Laboratório de análises da Faculdade Arnaldo Horácio Ferreira (FAAHFLAB), de Luís Eduardo Magalhães – BA, pelo Método volumétrico Dicromato de potássio (MAPA, 2017), na dosagem de  $9\text{ kg/ha}^{-1}$ .

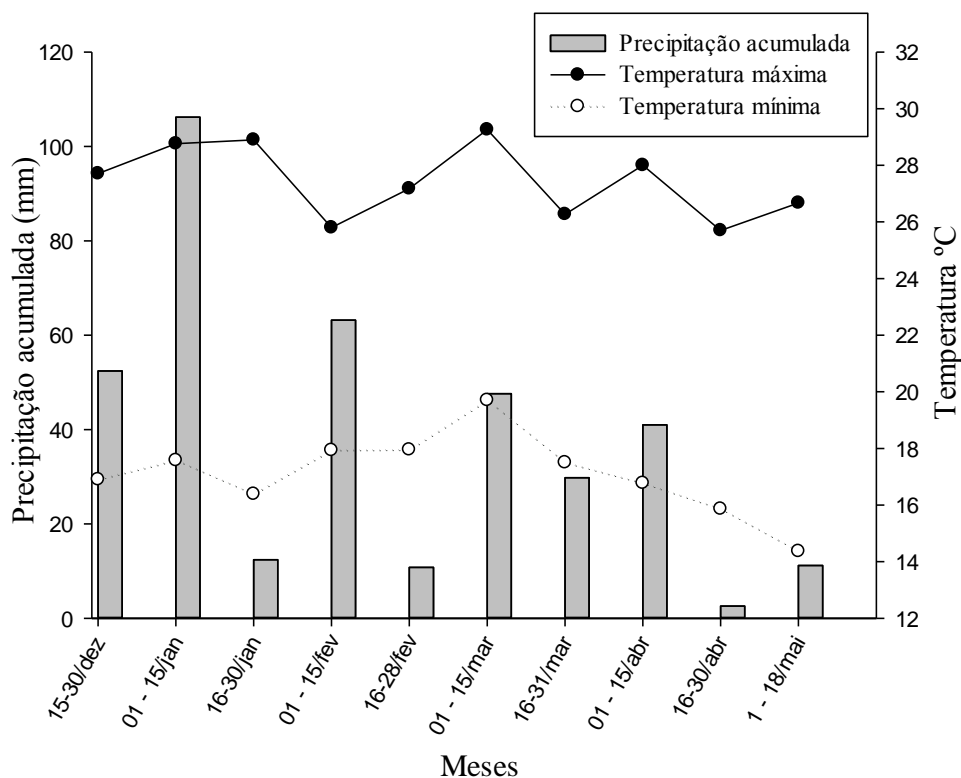
**Tabela 1.** Composição química do produto fertilizante comercial contendo Substâncias Húmicas

DETERMINAÇÃO	VALORES	UNIDADE
N Total	0,45	%
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Total	0,08	%
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ÁC. Cítrico 2%	0,02	%
K <sub>2</sub> O H <sub>2</sub> O	2,00	%
Ca Total	0,26	%
Mg Total	0,30	%
S Total	0,12	%
Zn Total	0,00	%
B Total	0,00	%

Cu Total	0,00	%
Mn Total	0,00	%
Fe Total	0,26	%
C.O.	4,75	%
CTC/C	0,00	%
pH	9,65	
Umidade	11,10	%
Densidade	0,82	M/V
Si Total	3,85	%
Al Total	1,85	%
Co Total	0,00	%
Ácido Fúlvico	2,34	%
Ácidos Húmicos	3,65	%

### 3.3 Avaliação da parte vegetativa de genótipos de milho

O ensaio foi conduzido em área aberta do Campus descrita no item 3.1. O solo utilizado foi retirado da camada 0 - 20 cm do horizonte A de um Latossolo Amarelo típico, coletados no mesmo local. A análise química do solo apresentou os seguintes resultados: pH em água = 5,2; P = 58,2 mg/dm<sup>3</sup>; Ca = 23,08 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Mg = 5,31 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; K = 0,52 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup>; Al+H = 21 mmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup> M.O = 21 g/dm<sup>3</sup>. A correção foi feita conforme a 5ª aproximação – Recomendação para uso de corretivos e fertilizantes de Minas Gerais (CHAGAS e outros, 1999), para produtividade entre 4 e 6 t/ha<sup>-1</sup> de milho grão. Foram utilizados 300 mg/kg<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> usando como fonte o superfosfato simples e 150 mg/kg<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de cloreto de potássio, a adubação nitrogenada foi realizada após semeadura, a fim de não interferir no processo de infecção dos inóculos. Foram aplicados 35mg/kg<sup>-1</sup> de fertilizante industrial, contendo substância húmica. A precipitação acumulada e a média das temperaturas máxima e mínima do período estão expressas na Figura 1.



**Figura 1.** Índices meteorológicos de dezembro de 2017 a maio de 2018

### 3.3.1 Delineamento do experimento

O delineamento experimental utilizado para avaliação da fase inicial da cultura, implantado em vaso, foi inteiramente casualizados, em esquema fatorial triplo 5x2x2 com seis repetições, sendo o primeiro fator a ausência de bactéria, uma estirpe ZAE94 e três inóculos nativos, J9, N11 e J15, o segundo fator a ausência e presença de substância húmica descrita no item 3.2, e o terceiro fator é composto por dois genótipos diferentes de milho (*Zea mays L.*), o híbrido AG 1051 e variedade Al bandeirante, findando em 120 parcelas.

Para avaliação da produtividade em campo, foi adotado o delineamento em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial triplo



5x2x2, com quatro repetições, avaliando os tratamentos anteriormente descritos, totalizando 80 parcelas.

### 3.3.2 Implantação dos experimentos

O experimento de vaso foi implantado no dia 20/12/2017. A semeadura foi realizada em vasos com capacidade para 20 kg, utilizando 4 sementes, previamente tratadas, por vaso. O vaso continha solo descrito no item 3.3 + areia na proporção 2:1 (v/v). Aos 10 dias após semeadura (DAS) foi realizada aplicação de 20 kg/ha<sup>-1</sup> de N na forma de uréia, requerido para o desenvolvimento inicial da cultura. Após a emergência foi feito o desbaste das plantas de forma a conter duas plantas por vaso. Aos 35 DAS, após a primeira avaliação, foi realizada uma segunda aplicação de N na forma de uréia, na dosagem de 40 kg/ha<sup>-1</sup>.

O experimento a campo foi instalado em 07/12/2017. O preparo do solo constou de uma aração e duas gradagens e, posteriormente, abertura dos sulcos com trator, de acordo com os espaçamentos das parcelas, que apresentavam quatro linhas de três metros de comprimento com espaçamento entre linhas de 0,70 m e 1 m entre os blocos. A área útil da parcela constava das duas linhas centrais, com bordaduras de 0,70 m nas extremidades.

A adubação de campo foi realizada de acordo com a recomendação da Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas (CHAGAS e outros, 1999), segundo a análise química do solo que apresentou os seguintes resultados: pH em água = 6,5; P = 16 mg dm<sup>-3</sup>; K = 0,27 cmolc/dm<sup>-3</sup>; Ca: 3,2 cmolc /m<sup>-3</sup>, M.O = 14 g/dm<sup>-3</sup>. A adubação de correção consistiu de 60 kg/ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 20 kg/ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O, usando como fonte o superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente, aplicados no sulco da semeadura de todos os tratamentos. A fonte de N utilizada foi a uréia, aplicado 40 kg/ha<sup>-1</sup> aos 12 DAS e 40 kg/ha<sup>-1</sup> em cobertura aos 35 e 40 kg/ha<sup>-1</sup> aos 45 dias após

plântio. Aos 45 dias após o plântio, foi realizada uma adubação foliar com sulfato de zinco a 1%, neutralizado com cal hidratada a 0,5%.

A substância húmica foi adicionada no sulco do plântio antes da semeadura na dose de 35 g/m<sup>-1</sup> apenas nos seus respectivos tratamentos.

A semeadura foi realizada manualmente nos sulcos das parcelas, nas quais foram semeadas 72 sementes por linha. Para diminuir os riscos de contaminação, as luvas eram trocadas a cada parcela. Os tratamentos com inoculação receberam a proporção referente a 250 g de inoculante turfoso para cada 10 Kg de sementes de milho. Aos vinte dias após o plântio (DAP) foi realizado o desbaste, permanecendo 24 plantas por linha.

O sistema de irrigação foi por aspersão convencional e o tempo de rega estimado de acordo as precipitações e temperatura do dia. Os tratos culturais e controle de pragas foram realizados de acordo com a necessidade da cultura.

### **3.3.3 Variáveis Analisadas**

Foram realizadas duas avaliações para o experimento conduzido em vasos. Aos 35 DAS foi realizada a retirada de 60 parcelas e aos 65 dias as outras 60 parcelas. As variáveis analisadas foram: altura de planta (AP) com auxílio de régua graduada em centímetros, diâmetro de caule (DC) com paquímetro digital expresso em centímetros, matéria fresca do sistema radicular em gramas (MFSR), matéria seca do sistema radicular expresso em gramas (MSSR), matéria fresca da parte aérea expresso em gramas (MFPA), matéria seca da parte aérea (MSPA), índice SPAD (SPAD), utilizando aparelho clorofiLOG da marca FALKER®, modelo CFL, N total (g/kg). O teor de N foi determinado pela digestão de Kjeldahl, conforme descrito por Bremner & Mulvaney (1982). A segunda avaliação ocorreu aos 65 DAS (28/02/2018), para as mesmas variáveis analisadas, nas parcelas restantes.

A coleta de dados de campo foi realizada no dia 18/05/2018, quando as plantas de milho atingiram a maturidade fisiológica e apresentava

umidade média de 13%. Foram colhidas manualmente 10 espigas da área útil de cada parcela. As espigas foram levadas para estufa de secagem a 65°C por 72 horas, para atingirem umidade de 13%.

As variáveis analisadas foram: produtividade estimada por hectare (PE), obtida pela estimativa de plantas por hectare; comprimento da espiga (CE) utilizando régua graduada; diâmetro de espiga (DE) realizado com paquímetro digital e peso de 1000 grãos (PCG), em balança analítica (modelo AY220, precisão de 0,0001). A frequência de grãos, obtidos na pesagem de 4 grãos, escolhidos de forma aleatória, repetindo 25 vezes, totalizando 100 grãos pesados. O resultado foi separado em 10 classes, de acordo com o peso, que variou de 0,30 a 0,55 gramas.

#### **3.3.4 Análise Estatística dos dados**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Skott Knott a 5% de probabilidade, no programa Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2010). Os gráficos foram construídos no programa SigmaPlot 12.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no experimento conduzido em vaso demonstraram que a inoculação de bactérias diazotróficas e o uso de substâncias húmicas (SH) nos genótipos estudados, não influenciaram significativamente alguns dos parâmetros avaliados: altura de planta (AP), diâmetro do colmo (DC), matéria seca da parte aérea (MSPA) e massa seca sistema radicular (MSSR), tanto na avaliação realizada aos 35 dias após a semeadura (DAS) quanto para a avaliação realizada aos 65 DAS.

As demais características estudadas, matéria fresca da parte aérea (MFPA), matéria fresca do sistema radicular (MFSR), Índice SPAD (SPAD), e nitrogênio Total (N Total) houve diferença significativa em pelo menos uma das avaliações realizadas, aos 35 DAS e 65 DAS (Tabela 2 e 3).

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância dos dados obtidos para as variáveis de massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca do sistema radicular (MFSR), dos tratamentos submetidos à inoculação de isolados de bactérias diazotróficas e substância húmica nos genótipos de milho AG 1051 e AL Bandeirante, avaliados aos 35 dias após a semeadura (DAS).

FV	QUADRADO MÉDIO	
	MFPA	MFSR
<b>BAC</b>	849,060 <sup>NS</sup>	541,720 <sup>NS</sup>
<b>SH</b>	3762,158*	372,902 <sup>NS</sup>
<b>GENÓTIPO</b>	849,060 <sup>NS</sup>	8612,182*
<b>BAC*SH</b>	359,971 <sup>NS</sup>	106,522 <sup>NS</sup>
<b>BAC*GEN</b>	1629,460*	1278,222*
<b>SH*GENÓTIPO</b>	383,699 <sup>NS</sup>	0,713 <sup>NS</sup>
<b>BAC*SH*GEN</b>	587,853 <sup>NS</sup>	190,566 <sup>NS</sup>
<b>erro</b>	530,218	302,952
<b>CV (%)</b>	18,92	22,01

\* e <sup>NS</sup>, significativo e não significativo pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, respectivamente.

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância dos dados obtidos para as variáveis de massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca do sistema radicular (MFSR) e Índice SPAD (SPAD), nitrogênio g/kg (N g/kg) submetidas à inoculação de bactérias diazotróficas e substância húmica em dois genótipos de milho, avaliados aos 65 dias após a semeadura (DAS).

FV	QUADRADO MÉDIO				
	GL	MFPA	MFSR	SPAD	N(g/kg)
<b>BAC</b>	4	2937,478 <sup>NS</sup>	1291,734 <sup>NS</sup>	14,732 <sup>NS</sup>	0,0578 <sup>NS</sup>
<b>SH</b>	1	1600,736 <sup>NS</sup>	3436,174 <sup>NS</sup>	143,359*	0,340*
<b>GENÓTIPO</b>	1	849,534 <sup>NS</sup>	31351,118*	112,751 <sup>NS</sup>	0,005 <sup>NS</sup>
<b>BAC*SH</b>	4	11255,175*	2212,855 <sup>NS</sup>	5,327 <sup>NS</sup>	0,0390 <sup>NS</sup>
<b>BAC*GEN</b>	4	3820,195 <sup>NS</sup>	2026,735 <sup>NS</sup>	51,498 <sup>NS</sup>	0,026 <sup>NS</sup>
<b>SH*GENÓTIPO</b>	1	2123,079 <sup>NS</sup>	4181,680 <sup>NS</sup>	26,733 <sup>NS</sup>	0,0224 <sup>NS</sup>
<b>BAC*SH*GEN</b>	4	9343,961 <sup>NS</sup>	2424,871 <sup>NS</sup>	77,773 <sup>NS</sup>	0,035 <sup>NS</sup>
<b>erro</b>	4	4129,506	2199,506	31,238	0,022
<b>CV (%)</b>		18,18	27,03	14,44	14,97

\* e <sup>NS</sup>, significativo e não significativo pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, respectivamente.

Na Tabela 4, observa-se que houve um incremento de 14% na MSPA, nos tratamentos em presença de substância húmica, indicando que a SH estimulou o crescimento e produção de biomassa das plantas de milho. Pode-se, portanto, que este acúmulo é resultado de seu comportamento hormonal semelhante à auxina exógena, homônimo responsável pelo crescimento vegetal, bem como a melhoria na estrutura do solo, promovido pela substância húmica, que disponibilizou melhor aporte de nutriente.

**Tabela 4.** Média da variável massa fresca da parte aérea (MFPA) em função da ausência e presença de substância húmica, aos 35 dias após semeadura (DAS).

SUBSTÂNCIA HÚMICA	MFPA
AUSÊNCIA	113,77 b
PRESENÇA	129,60 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Tahir e outros (2011) observaram aumento significativo do peso de massa fresca em plantas de trigo cultivadas em vasos com solos calcários e não calcários. O incremento se deu em 25% no tratamento com concentração de 60 mg/kg<sup>-1</sup> de AH, em relação ao tratamento não submetido à aplicação.

Em condições de hidroponia, dados experimentais corroboram com os resultados encontrados no presente trabalho, para plantas de milho. Eyheraguibel e outros (2008), relataram aumento de 65% no peso fresco de plantas de milho aos 60 DAS. Estes valores foram associados a uma melhor síntese de biomassa das plantas e uma maior eficiência hídrica nos tratamentos com 50 mg/l<sup>-1</sup> de SH em relação ao controle. Schiavon e outros (2010), relataram acréscimo de 115% na massa fresca de plântulas de milho aos 14 dias após a germinação em tratamentos com dose de 1 mg/l, atribuindo às altas concentrações de AIA presente na dose de SH aplicadas no experimento.

O desdobramento da interação dupla da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e do sistema radicular (MFSR) aos 35 DAS (Tabela 5) indica que, nas condições testadas, entre os genótipos, o híbrido AG 1051 foi mais responsivo à inoculação do que a variedade Al bandeirante, para ambas as variáveis.

Em presença de inóculo, houve incremento de 2 a 9% de MFPA e 14 a 19,5% de MFSR em relação ao tratamento que não foi inoculado para a variedade, enquanto que para o híbrido o incremento ocorreu apenas no tratamento com inóculo J9 (13% e 16%), para MFPA e MFSR, respectivamente.

**Tabela 5.** Desdobramento da interação entre genótipos de milho híbrido AG 1051 e variedade AL Bandeirante com presença e ausência de inoculação de

isolados de bactéria diazotróficas da variável matéria fresca da parte aérea (MFPA) e matéria fresca do sistema radicular (MFSR), aos 35 dias após semeadura (DAS).

INOCULAÇÃO	MFPA		MFSR	
	AG 1051	AL BAND	AG 1051	AL BAND
<b>Sem Inóculo</b>	133,22 aA	113,93 aA	95,58 aA	61,06 aB
<b>J9</b>	150,80 aA	116,08 aB	111,36 aA	61,06 aB
<b>Z94</b>	127,73 aA	115,24 aA	77,35 bA	72,96 aA
<b>J15</b>	120,87 aA	119,13 aA	99,77 aA	70,93 aB
<b>N11</b>	96,08 bB	123,76 aA	71,33 bA	69,57 aA

Médias seguidas de letras minúscula na coluna e maiúsculas na linha são iguais significativamente pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

Os genótipos apresentaram comportamento distinto. Essas diferenças entre os genótipos em face da presença de bactérias diazotróficas é uma característica que demonstra um potencial do milho híbrido e que pode ser satisfatoriamente explorada pelo melhoramento genético.

Os resultados encontrados divergem com o trabalho de Jesus (2014), que observou o incremento de 48% na MFPA e MFSR da variedade Al Bandeirante, em face do uso dos mesmos inóculos. O maior incremento encontrado na variedade foi atribuído à rusticidade do genótipo, quando comparada ao híbrido AG 1051 submetidos à mesma condição.

A divergência entre os trabalhos pode ser explicada pela diferença na época de implantação do trabalho. Gyaneshwar e outros, (2002) sugere que a interação entre genótipo e ambiente tenha expressiva influência sobre a eficiência dos organismos diazotróficos.

O mecanismo mais relatado para explicar os efeitos positivos da inoculação com bactérias diazotróficas é a capacidade de produzir auxina. O ácido indol acético (AIA) presente na auxina é sintetizado pelas bactérias e possui um papel importante na promoção do crescimento de plantas, de forma direta, na síntese de metabólitos primários ou indireta, aumentando a absorção

de nutrientes (BASHAN e outros, 2004; PATEL e outros, 2015; OLANREWAJU e outros, 2017). Riggs e outros, (2001) relataram aumento no peso total de plantas inoculadas com *Burkholderia spp*, *Azospirillum brasilense* e *H. seropedicae* em comparação com o tratamento que não recebeu a inoculação.

Ao avaliar a quantidade de clorofila através do índice SPAD (Tabela 6), verificou-se que, em presença de SH, o teor de clorofila foi 8,4% maior que em plantas em ausência de SH, podendo pressupor que a SH atua no aumento da quantidade de cloroplastos da célula da planta, que implica em maior absorção de fótons de luz, que reflete valores de leitura SPAD superiores.

**Tabela 6.** Média das variáveis índice Spad (SPAD) e nitrogênio total (N g/kg<sup>1</sup>) em função da presença e ausência de substância húmica, aos 65 dias após semeadura (DAS).

SUBS. HÚMICA	SPAD	N TOTAL
PRESENÇA	40,28 a	1,08 a
AUSÊNCIA	37,16 b	0,93 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Jannin e outros (2012) estudaram o comportamento da canola a adição de bioestimulante contendo SH e observaram que, plântulas tratadas com SH e avaliadas aos 1, 3 e 30 dias após início do experimento, apresentaram valores de leitura de clorofila pelo SPAD crescente.

Os autores realizaram medições da taxa de fotossíntese líquida que demonstraram um aumento da atividade fotossintética aos 3 e 30 dias após o contato com a solução de SH. Observações microscópicas mostraram que, no tratamento contendo 100 mg/l<sup>1</sup> de SH, o cloroplasto possuía maiores quantidade de amido em comparação com as plantas não tratadas, inferindo que, a SH não tem influência apenas na fase fotoquímica, mas também incita o aumento da atividade da fase bioquímica da fotossíntese.



Outra característica atribuída a SH é o atraso da senescência foliar, com o aumento no número de cloroplastos, assim, prolongaria o ação fotossintetizante da planta. Etienne e outros (2007), Park e outros (2007), e Desclos e outros (2008) observaram que a regulação de alguns genes que codificam os inibidores de protease, limitando a degradação da proteína das folhas e protege a degradação da clorofila.

Pinton e outros (1999) em estudo utilizando substâncias húmicas, avaliaram que após a exposição à SH e solução de nitrato, simultaneamente, houve a estimulação da atividade da membrana plasmática próton-ATPase (PM  $H^+$ -ATPase) após 4 horas, e o mesmo estímulo foi observado solução que não continha nitrato, inferindo que, a SH atua na modulação da bomba de prótons no sistema radicular das plantas.

Já a influência da SH sobre o teor de nitrogênio total (Tabela 6), nota-se que em houve diferença significativa em presença da SH. Um incremento médio 16% na quantidade de nitrogênio por kg de matéria seca. Este resultado sugere que as SH estimulam o acúmulo de nitrato nas folhas, devido a uma maior eficiência na captação e translocação do  $NO_3^-$ .

Quaggiotti e outros (2004) concluíram que os ácidos húmicos presentes na SH estimula a absorção de nitrato e amônio no milho, através da regulação da síntese de mRNA da forma Mha2 da  $H^+$ -ATPase, sugerindo que, além da ação direta sobre o sistema radicular do milho, o efeito é prolongado ate a parte aérea da planta, nos genes ZmNrt2.1 e Mha1.

Os efeitos das SH na planta variam de acordo com as doses empregadas, a fonte de obtenção utilizada (lodo de esgoto, turfa, leonardita australiana, compostagem e outros), o grau de purificação (desagregação das partes húmica, fúlvica e humina), assim como a forma de aplicação ou tipo de substrato utilizado (AYUSO e outros, 1996).

Pela Tabela 7, verifica-se que, a associação da SH e inoculação de bactérias diazotróficas contribuíram para o aumento da massa fresca da parte aérea das plantas de milho aos 65 DAS em 9% em presença da SH sem a inoculação, e 32,20% em associação da SH com o inóculo J9.

Isto sugere que, os efeitos exercidos pelas SH no sistema radicular, promovem o aumento em tamanho e número de raízes, provocando uma maior área de contato para o estabelecimento endofítico da bactéria na planta, uma vez estabelecida, a bactéria promotora de crescimento estimula a bomba de prótons da membrana plasmática que por diferença de gradiente acarreta na maior absorção de nutrientes e água para incremento da biomassa na planta.

**Tabela 7.** Desdobramento da interação entre presença e ausência de substância húmica (SH) e inóculos de bactérias diazotróficas e ausência de inoculo da variável matéria fresca da parte aérea (MFPA), aos 65 dias após semeadura (DAS).

INOC.	SUBSTÂNCIA HÚMICA	
	AUSÊNCIA	PRESENÇA
<b>Sem Inóculo</b>	352,80 aA	383,59 aA
<b>J9</b>	298,99 aB	395,25 aA
<b>Z94</b>	336,08 aA	351,41 aA
<b>J15</b>	383,49 aA	360,25 aA
<b>N11</b>	370,21 aA	302,74 aA

Médias seguidas de letras minúscula na coluna e maiúsculas na linha são iguais significativamente pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Canellas e outros, (2013) observaram que a inoculação de milho com *H. seropedicae* na presença de 20 mg/l<sup>-1</sup> de SH induziu a emergência da raiz lateral nos estágios iniciais de crescimento das plantas, em condição hidropônica. No experimento foram constatados o estímulos da membrana plasmática H<sup>+</sup>-ATPase, que favoreceu a colonização pela bactéria promotora de crescimento. O efeito sinérgico da associação promoveu o aumento na produção de grãos, quando avaliado em campo.

Conceição e outros, (2008) estudaram o efeito do recobrimento de sementes de milho com SH, bactérias diazotróficas endofíticas e o uso em conjunto de AH e bactérias na estimulação do crescimento vegetal e na população de bactérias estabelecidas na planta hospedeira. Os autores

observaram que a adição de AH, bactérias e o uso em conjunto estimularam em 12%, 14% e 12,5%, respectivamente, a massa fresca da parte aérea.

Ao avaliar o efeito isolado dos genótipos utilizados, foram observados aumentos significativos para o híbrido na matéria seca do sistema radicular tanto aos 35 DAS quanto aos 65 DAS (Tabela 8).

**Tabela 8.** Média da variável massa seca do sistema radicular (MSSR) dos genótipos de milho híbrido AG 1051 e variedade Al Bandeirante, aos 35 e 65 dias após semeadura (DAS).

GENÓTIPOS	35 DAS	65 DAS
AG 1051	15,09 a	196,36 a
AL BAND	11,79 b	150,67 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Nota-se que houve um incremento de 28% na massa seca do sistema radicular do híbrido em comparação com a variedade nas condições estudadas, aos 35 DAS. Aos 65 DAS, o híbrido incrementou 30,3% a mais que a variedade. Os genótipos apresentaram comportamento diferenciado para essa variável, sendo que, os resultados foram independentes dos tratamentos estudados.

Para o experimento a campo, houve interação significativa para o fator genótipo nas variáveis analisadas diâmetro de espiga (DE), comprimento de espiga (CE) e massa de mil grãos (1000G) e produtividade estimada (PE) (Tabela 9).

**Tabela 9.** Resumo da análise de variância dos dados obtidos em experimento a campo para as variáveis de diâmetro de espiga (DE), comprimento de espiga (CE), massa de mil grãos (1000G) e produtividade estimada (PE), submetidas à inoculação de isolados de bactérias diazotróficas associada à presença e ausência de substância húmica em dois genótipos de milho AG 1051 e Al Bandeirante.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO			
		DE	CE	1000 G	PE
ISOL	4	0,201 <sup>NS</sup>	1,638 <sup>NS</sup>	118,79 <sup>NS</sup>	921000,600 <sup>NS</sup>
SH	1	0,135 <sup>NS</sup>	1,725 <sup>NS</sup>	376,451 <sup>NS</sup>	172679,744 <sup>NS</sup>

<b>GENÓTIPO</b>	1	816,83*	9,975*	3662,3*	654020670,5*
<b>ISOL*SH</b>	4	1,264 <sup>NS</sup>	1,086 <sup>NS</sup>	85,150 <sup>NS</sup>	2052465,795 <sup>NS</sup>
<b>ISOL *GENÓT</b>	4	1,410 <sup>NS</sup>	0,874 <sup>NS</sup>	136,832 <sup>NS</sup>	1427409,204 <sup>NS</sup>
<b>SH*GENÓT</b>	1	0,044 <sup>NS</sup>	0,657 <sup>NS</sup>	649,800 <sup>NS</sup>	27683,124 <sup>NS</sup>
<b>ISOL*SH*GEN</b>	4	0,502 <sup>NS</sup>	1,109 <sup>NS</sup>	221,469 <sup>NS</sup>	913372,306 <sup>NS</sup>
<b>REP</b>	3	1,992 <sup>NS</sup>	0,848 <sup>NS</sup>	38,774 <sup>NS</sup>	975971,681 <sup>NS</sup>
<b>erro</b>	57	0,734	1,493	204,946	901353,9255
<b>CV (%)</b>		1,63	6,16	4,96	5,6

\* e <sup>NS</sup>, significativo e não significativo pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, respectivamente.

As variáveis diâmetro de espiga (DE), comprimento de espiga (CE), massa de mil grãos (1000G) e produtividade estimada (PE) foi influenciada estatisticamente pelos tratamentos a que foram submetidos. O híbrido de milho AG 1051 foi superior em todas as variáveis, com incrementos de 12,9%, 3,6%, 4,8% e 40,5%, respectivamente, em relação à variedade AL Bandeirante (Tabela 10). O resultado encontrado demonstra o potencial de resposta do milho híbrido, fator que, pode ser explorado pelos geneticistas.

**Tabela 10.** Média das variáveis diâmetro de espiga (DE), comprimento de espiga (CE), massa de mil grãos (1000G) e produtividade estimada (PE) dos genótipos AG 1051 e variedade Al Bandeirante.

GENÓTIPO	DE	CE	1000G	PE
AG 1051	55,65 a	20,19 a	295,31 a	19824,76 a
AL BAND	49,26 b	19,48 b	281,78 b	14106,28 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Segundo Ohland e outros (2005), o comprimento e o diâmetro de espiga, o número de espigas por área e a densidade dos grãos são características que determinam o potencial de produtividade e o peso da massa de cem grãos é uma característica influenciada pela disponibilidade de nutrientes e pelas condições climáticas durante os estádios de enchimento dos grãos. Todas essas variáveis são induzidas pelo genótipo.

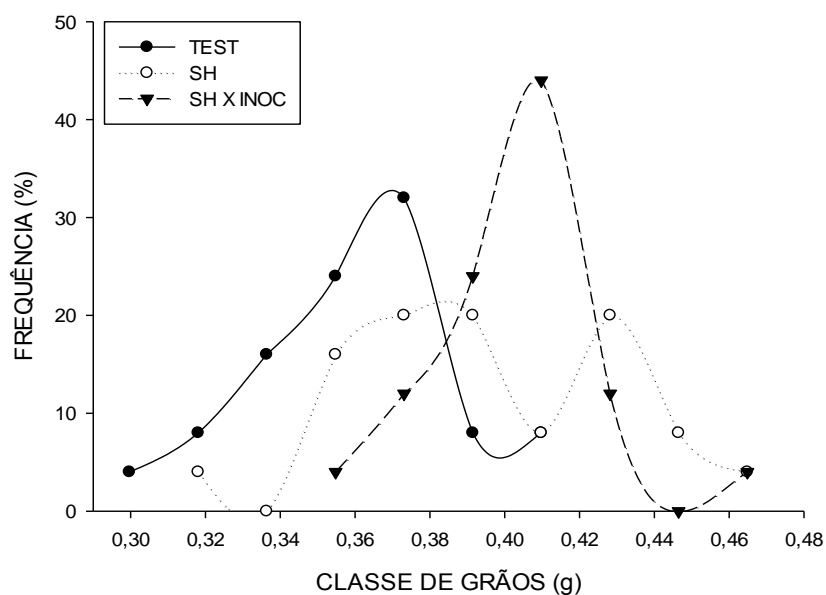
Araújo e outros (2012) evidenciaram como primordial estabelecer critérios para distinguir genótipos de milho em termos de afinidade com estirpes de microrganismos, tanto do ponto de vista de produção de fito-hormônios como em termos de FBN, fatores esses que interferem diretamente na produtividade.

Santos (2018) avaliou o desempenho agrônomico do milho AG 1051, em função da inoculação das sementes, verificou que a inoculação com estirpes de *H. seropedicae* e *Azospirillum brasilense* em função de doses de N, incrementou em 1,8%, 3,5% e 12,2% as variáveis diâmetro de espiga, comprimento de espiga e produtividade estimada, respectivamente, corroborando com os resultados encontrados no presente trabalho.

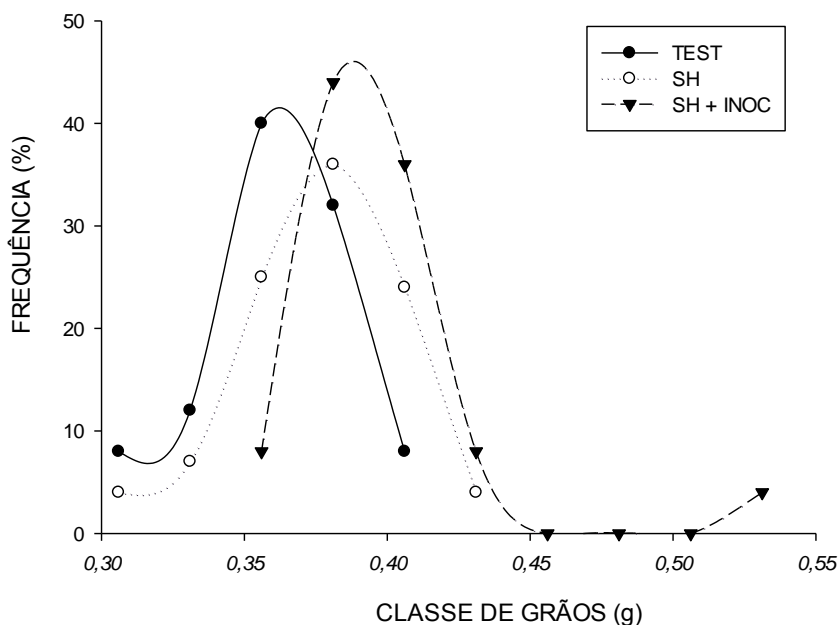
Na distribuição da densidade de classe de grãos (Figura 2 e 3), a associação da inoculação com isolados de bactérias diazotróficas + SH apresentou uma porcentagem maior de grãos entre 0,42g a 0,44g para o híbrido de milho AG 1051 (Figura 2), enquanto que para a variedade os valores foram entre 0,40g e 0,45g (Figura 3).

Nos tratamentos que havia apenas a SH, houve um comportamento

uniforme entre as classes para o híbrido, apresentando um deslocamento para as classes de maior média de peso que a testemunha. O mesmo comportamento para o tratamento contendo apenas SH foi observado para a variedade, que expôs maior pico de frequência para classes de maior peso que a testemunha.



**Figura 2.** Densidade de frequência de grãos em relação a diferentes classes de peso do híbrido de milho AG1051 em presença de substância húmica; inoculação com isolados de bactéria diazotróficas + substância húmica e tratamento testemunha.



**Figura 3.** Densidade de frequência de grãos em relação a diferentes classes de peso do híbrido de milho variedade Al Bandeirante em presença de substância húmica; inoculação com isolados de bactéria diazotróficas + substância húmica e tratamento testemunha.

A SH interage com os nutrientes presentes no solo, afetando de forma direta e indireta a biodisponibilidade destes através de sua capacidade de formar complexos com íons metálicos. Esta interação aumenta a disponibilidade de micronutrientes como zinco, manganês, cobre e ferro; e macronutrientes como o fósforo (GARCÍA e outros, 2016), elemento responsável pela nutrição da planta e transferência de energia na síntese de substâncias orgânica (PRIMAVESI, 1985) e substancialmente requerida para a formação enchimento de grãos (BÜLL, 1993; COELHO e FRANÇA, 1995).

Os genótipos de milho estudados responderam positivamente com o incremento na massa de grão em resposta ao tratamento contendo SH e bactérias diazotróficas. Tal interação era esperada, haja vista que, o uso de suspensão de células de bactérias diazotróficas endofíticas juntamente com

SH's solúveis promove o aumento da colonização epifítica e endofítica da planta hospedeira pelas bactérias (CANELLAS e outros, 2013).

É sabido que a interação entre o milho e bactérias diazotróficas são dependentes dos genótipos da planta e dos microrganismos envolvidos na associação (GARCIA DE SALOMONE e DÖBEREINER, 1996) o que concorda com o resultado obtido no presente, onde o híbrido de milho AG 1051 foi superior estatisticamente que a variedade estudada.

Diante do exposto, a metodologia proposta neste trabalho pode vir a ser uma ferramenta importante na conservação dos recursos não renováveis, mantendo a produtividade das culturas comerciais.



## 5 CONCLUSÃO

Isolados de bactérias diazotróficas nativas influenciam no incremento da matéria fresca da parte aérea e matéria fresca do sistema radicular, aos 35 DAS, nos genótipos AG 1051 e AL Bandeirante, e estes apresentaram comportamento diferenciado.

A presença de substância húmica aumenta em 14% a massa da matéria fresca, aos 35 dias após semeadura. Aos 60 dias a influência é observada na clorofila total e nitrogênio total, 19% e 17% respectivamente.

A associação dos isolados J9 de bactéria diazotrófica e substância húmica proporciona aumento na massa fresca da parte aérea de 32,2%.

Para as características produtivas, o híbrido AG 1051 apresenta melhor desempenho em diâmetro de espiga, comprimento de espiga, produtividade estimada e peso de mil grãos que a variedade Al Bandeirante.

## 6 REFERÊNCIAS

- ADANI, Fabrizio e outros . The effect of commercial humic acid on tomato plant growth and mineral nutrition. **Journal of plant nutrition**, v. 21, n. 3, p. 561-575, 1998.
- AGROCERES. Sementes Agrocere. Milho híbrido AG1051. Disponível em: [http://www.sementesagrocere.com.br/?page\\_id=426](http://www.sementesagrocere.com.br/?page_id=426). Acessado em: 10 Jun, 2018.
- AGUIAR NO, Medici LO, Olivares FL, Dobbss LB, TorresNetto A, Silva SF Novotny EH, Canellas LP. Metabolic profile and antioxidant responses during drought stress recovery in sugarcane treated with humic acids and endophytic diazotrophic bacteria. **Ann Appl Biol**. 2016; 168:203–13.
- AHEMAD, Munees; KIBRET, Mulugeta. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University-Science**, v. 26, n. 1, p. 1-20, 2014.
- ALIKHANI, H. A.; SALEH-RASTIN, N.; ANTOUN, H. Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. In: First international Meeting on microbial phosphate solubilization. **Springer, Dordrecht**, 2007. p. 35-41.
- ALVES, G. C. **Efeito da Inoculação de Bactérias Diazotróficas dos Gêneros Herbaspirillum e Burkholderia em Genótipos de Milho**. 2007. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 2007.
- AMARAL, F. P., Bueno, J. C. F., Hermes, V. S. e Arisi, A. C. M. (2014). Gene expression analysis of maize seedlings (DKB240 variety) inocuated with plant growth promoting bacterium Herbaspirillum seropedicae. *Symbiosis*, 62, 41-50. <http://dx.doi.org/10.1007/s13199-014-0270-6>.
- ARAUJO, E. O.; MARTINS, M. R.; VITORINO, A. C. T. et al. Effect off nitrogen associad with diazotrofic bacteria inoculation on nitrogen use efficiency and its biological fiation by corn determined using 15N. **African Journal of Microbiology Research**, v.9, p. 643-650, 2015.
- AYUSO, M., Hernandez, T., Garcia, C., & Pascual, J. A. (1996). Stimulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. **Bioresource Technology**, 57(3), 251-257.
- BALDANI, J. I; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. et al. Recent advances in BNF with non-legume plants. **Soil Biology and Biochemistry**, 29: 911-922, 1997.

BALDANI, J.I.; BALDANI, V.L.D.; SELDIN, L. et al. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 36, 86-93, 1986.

BALDOTTO, Maribus Altoé et al. Propriedades redox e grupos funcionais de ácidos húmicos isolados de adubos orgânicos. **Bras. Ci. Solo**, v. 31, p. 465-475, 2007.

BALDOTTO, Maribus Altoé; BALDOTTO, LÍlian Estrela Borges. Ácidos Húmicos. **Revista Ceres**, v.61, p.856-881, 2014.

BASHAN, Y., G. Holguin and L.E. de-Bashan, 2004. *Azospirillum*-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). **Can. J. Microbiol.**, 50: 521-577.

BATISTA, F. de C.; OLIVEIRA, M. C.; FERNANDES, T. A.; RIBEIRO, V. P.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; LANA, U. G. de P.; OLIVEIRA, C. A. de. Avaliação da produção de sideróforos por microrganismos endofíticos solubilizadores de fosfato de ferro associados à cultura de milho. 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. p. 1084. FertBio 2016.

BELLIDO, L.L. (1991). *Cultivos Herbáceos - Cereales*. Vol. 1, **Ed. Mundi-Prensa**, Madrid. 539 p.

BORCIONI, Elis; MÓGOR, Átila Francisco; PINTO, Fernanda. Influence of the application of fulvic acid on seedling root growth and yield in lettuce. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 3, p. 509-515, 2016.

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*. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, V. 51, n.1, p.45-52, jan. 2016.

BREMNER, J.M.; MULVANEY, C.S. Nitrogen-total. In: PAGE, A.L. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: ASA, 1982. pt.2, p.595-624

BUCKLER, E.S.; GAUT, B.S.; McMullen, M.D. Molecular and functional diversity of maize. **Current Opinion in Plant Biology**, v.9, n.2, p.172-176, 2006.

BÜLL, L.T. Nutrição mineral do milho. In: BÜLL, L.T.; CANTARELLA, H. (Ed.). *Cultura do Milho: fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: **POTAFOS**, 1993. p. 63-145.

- CANELLAS, L.P ; SANTOS; G. A. HUMOSFERA, tratado preliminar sobre a química das substâncias húmicas. UENF, 2005.
- CANELLAS, L.P, Martínez Balmori D, Médici LO, Aguiar NO, Campostrini E, Rosa RC, Façanha A, Olivares FL. A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). **Plant Soil**. 2013;366:119–32.
- CANELLAS, L.P, Olivares FL. Production of border cells and colonization of maize root tips by *Herbaspirillum seropedicae* are modulated by humic acid. **Plant Soil**. 2017;417:403–13.
- CANELLAS, L.P, Zandonadi DB, Olivares FL & Façanha AR (2006) Efeitos fisiológicos de substâncias húmicas - o estímulo às H<sup>+</sup> - ATPases. In: Fernandes MS (Ed.) Nutrição Mineral de Plantas. v.1. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**. p. 175-200
- CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A.L. & FAÇANHA, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiol.**, 130:1951-1957, 2002.
- CASIMIRO, I; Beeckman T, Graham N, Bhalerao R, Zhang H, Casero P, Sandberg G, Bennett MJ. Dissecting Arabidopsis lateral root development. **Trends. Plant Sci**. 2003;8:165–71.
- CATI Disponível em  
: [http://www.cati.sp.gov.br/Cati/\\_produtos/SementesMudas/cultivares/MILH OAL-BANDEIRANTE.pdf](http://www.cati.sp.gov.br/Cati/_produtos/SementesMudas/cultivares/MILH OAL-BANDEIRANTE.pdf). Acesso em jun de 2018.
- CHAGAS, J.M., BRAGA, J.M., VIEIRA, C. *et al.* Feijão. In: RIBEIRO, A.C., GUIMARÃES, P.T.G., ALVAREZ V., V.H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5º. Aproximação. Viçosa : CFSEMG, 1999. p.306-309.
- COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação. **Piracicaba: Informações Agronômicas**, p.1-9, 1995.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: 2017/2018, julho 2018. – Brasília: Conab, 2018a.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) web site with methodology and results of agriculture production costs. <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1546&t>. Accessed junho 2018b.
- CONCEIÇÃO, P.M; Vieira, H.D, Canellas, L.P, Marques-Júnior, R.B, Olivares FL. Recobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. **Pesq Agropec Bras**. 2008;43:545–8.

COOPER, R. J.; LIU, Chunhua; FISHER, D. S. Influence of humic substances on rooting and nutrient content of creeping bentgrass. **Crop Science**, v. 38, n. 6, p. 1639-1644, 1998.

CRUZ, L. M. et al. 16S ribosomal DNA characterization of nitrogen-fixing bacteria isolated from banana (*Musa spp.*) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merrill). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 5, p. 2375-2379, May, 2001.

DA PIEDADE MELO, A. Olivares FL, Médici LO, Torres-Neto A, Dobbss LB, Canellas LP. Mixed rhizobia and *Herbaspirillum seropedicae* inoculations with humic acid-like substances improve water-stress recovery in common beans. **Chem Biol Technol Agric**. 2017;4:6.

DARTORA, J. GUIMARÃES, V. F.; MARINE, D. et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e ambiental**, v.17, n.10, p.1023-1029, 2013.

DELFINE S, Tognetti R, Desiderio E & Alvino A (2005) Effects of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. **Agronomy for Sustainable Development**, 25:183- 191.

DEMÉTRIO, C.S.; FORNASIERI FILHO, D.; CAZETTA, J.O; CAZETTA, D.A. Desempenho de híbridos de milho submetidos a diferentes espaçamentos e densidades populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1691-1697, 2008.

DESCLOS M, Dubousset L, Etienne P, Bonnefoy J, Lecahérec F, Satoh H, Ourry A, Avice JC (2008) A proteomic profiling approach to reveal a novel role of BnD22 (*Brassica napus* drought 22)/water soluble chlorophyll binding protein in young leaves during nitrogen remobilization induced by stressful condition. **Plant Physiol** 147:1830–1844

DOORNBOS, R. et al. (2012) Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. **A review. Agron. Sustain. Dev.** 32, 227–243

DOTTO, A. P.; LANA, M. C.; STEINER, F.; FRANDOLOSO, J. F. Produtividade do milho em resposta à inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 5, n. 3, p. 376-382, 2010.

DRIOUICH, A., Follet-Gueye, M.L., Vire-Gibouin, M., Hawes, M., 2013. Root border cells and secretions as critical elements in plant host defense. **Curr. Opin. Plant Biol.** 16, 489 e 495.

ETIENNE P, Desclos M, Le Gou L, Gombert J, Bonnefoy J, Maurel K, Le Dily F, Ourry A, Avice JC (2007) Nprotein mobilization associated with the leaf senescence process in oilseed rape in concomitant with the disappearance of trypsin inhibitor activity. **Funct Plant Biol** 34:895– 906.

EYHERAGUIBEL , BORIS, JÉRÔME SILVESTRE, PHILIPPE MORARD. Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. **Bioresource Technology, Elsevier**, 2008, vol. 99, pp. 4206-4212. <10.1016/j.biortech.2007.08.082>. <hal-00940093>.

FERRARA G & BRUNETTI G (2008) Influence of foliar applications of humic acids on yield and fruit quality of table grape cv. Itália. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, 42:79- 87.

FERREIRA, D. F. SISVAR - Sistema de análise de variância. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.

FERREIRA, J. S.; GUIMARÃES, S. L.; BALDANI, V. L. D. Produção de grãos de arroz em função da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. **Enciclopédia Biosfera**, v.7, n.13, 2011.

FRANKENBERGER WT Jr, Arshad M. Phytohormones in soils: **microbial production and function**. New York: Marcel Dekker, Inc; 1995.

GARCIA DE SALOMONE, I.E.; DÖBEREINER, J. Maize genotype effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biol. Fert. Soils**, 21:193-196, 1996.

GARCIA, A. C., Santos, L. A., de Souza, L. G. A., Tavares, O. C. H., Zonta, E., Gomes, E. T. M., et al. (2016). Vermicompost humic acids modulate the accumulation and metabolism of ROS in rice plants. **J. Plant Physiol.** 192, 56–63. doi: 10.1155/2016/3747501

GOPALSWAMY, G., & Vidhyasekaran, P. (1988). Effect of *Azospirillum lipoferum* inoculation and inorganic nitrogen on wetland rice. **Oryza**, 26, 378-380.

GRAY EJ, Smith DL (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biol. Biochem.** 37:395-412.

GYANESHWAR, P.; JAMES, E. K.; REDDY, P. M.; LADHA, J. *Herbaspirillum* colonization increases growth and nitrogen accumulation in aluminium-tolerant rice varieties. **New Phytologist**, New York, v. 154, n. 2, p. 131-145, 2002.

- HAVLIN, J. L., Beaton, J. D., Tisdale, S. L., & Nelson, W. L. (2005). Soil fertility and fertilizers: An introduction to nutrient management (Vol. 515, pp. 97-141). **Upper Saddle River**, NJ: Pearson Prentice Hall.
- HUNGRIA, M., Campo, R. J., Souza, E. M. e Pedrosa, F. O. (2010). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, 331, 413-425. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>.
- IHSS - International Humic Substances Society (2018) Products. Disponível em: <<http://www.ihss.gatech.edu/products.html>>. Acessado em: 14 de julho de 2018.
- INNEREBNER G, Knief C, Vorholt JA (2011). Protection of *Arabidopsis thaliana* against leaf-pathogenic *Pseudomonas syringae* by *Sphingomonas* strains in a controlled model system. **Appl. Environ. Microbiol.** 77:3202-3210.
- JANNIN, L., Arkoun, M., Ourry, A., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M., & Houdusse, F. (2012). Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: involvement of N, C and S metabolisms. **Plant and soil**, 359(1-2), 297-319.
- JESUS, Cristina Meira de. **Respostas de diferentes genótipos de milho à inoculação de bactérias diazotróficas e fontes de nitrogênio** 24/02/2014 90 f. Mestrado em Agronomia (fitotecnia). Instituição de ensino: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, vitória da conquista biblioteca depositária: biblioteca central da UESB.
- KOPPEN, W.: Das geographische System der Klimate, in: **Handbuch der Klimatologie**, edited by: "Koppen, W. and Geiger, G., 1. C. Gebr, Borntraeger, 1-44, 1936.
- LIMA LS, Olivares FL, Oliveira RR, Vega MRG, Aguiar NO, Canellas LP. Root exudate profiling of maize seedlings inoculated with *Herbaspirillum seropedicae* and humic acids. **Chem Biol Technol Agric.** 2014;1:23.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de métodos analíticos oficiais para fertilizantes e corretivos**/Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : MAPA, 2017. 240 p. ISBN 978-85-7991-109-5
- MARIN, M.A. **Sistema de visão artificial para a diagnose nutricional de ferro, boro, zinco e cobre em plantas de milho.** 2012. 127 f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassuninga, 2012.

- MARQUES JÚNIOR RB, Canellas LP, Silva LG, Olivares FL. Rooting of micro seed pieces by combined use of humic substances and endophytic diazotrophic bacteria in sugar cane. **R Bras Ci Solo**. 2008;32:1121–8.
- MATOSO, E. S.; MARCO, E.; BELLE, C. et al. Desenvolvimento inicial de mudas pré-brotadas de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas. **13º jornada de pós-graduação e pesquisa**. Urcamp, 2016.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2.ed. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.
- NIBAU C, Gibbs DJ, Coates JC. Branching out in new directions: the control of root architecture by lateral root formation. **New Phytol**. 2008;179:595–614.
- NUNES, J. C.; CAVALCANTE, L. F.; NETO, A. J. de L.; SILVA, J. A da.; SOUTO, A. G. de.; ROCHA, L. F. da. Humitec® e cobertura morta do solo no crescimento inicial da goiabeira cv. ‘Paluma’ no campo. **Revista Agro@mbiente On-line.**, Boa Vista, v. 8, n. 1, p. 89-96, 2014.
- OHLAND, R. A. A.; SOUZA, L. C. F.; HERNANI, L. C.; MARCHETTI, M. E.; GONÇALVES, M. C. Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005.
- OLANREWAJU, Oluwaseyi Samuel; GLICK, Bernard R.; BABALOLA, Olubukola Oluranti. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 11, p. 197, 2017.
- OLIVARES, F. L., Busato, J. G., Paula, A. M., Lima, L. S., Aguiar, N. O., & Canellas, L. P. (2017). Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, 4(1), 30.
- OLIVEIRA AGUIAR, Natália de et al. Distribuição de massa molecular de ácidos húmicos e promoção do crescimento radicular. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 6, 2009.
- ONGENA M, Jacques P, Touré Y, Destain J, Jabrane A, Thonart P (2005). Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. 69:29-38.
- PARK SY, Yu JW, Li J, Yoo SC, Lee NY, Lee SK, Jeong SW, Seo HS, Koh HJ (2007) The senescence-induced staygreen protein regulates chlorophyll degradation. **Plant Cell** 19:1649–1664.



- PATEL, K., Goswami, D., Dhandhukia, P., & Thakker, J. (2015). Techniques to study microbial phytohormones. In **Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem** (pp. 1-27). Springer, Cham.
- PEREIRA FILHO, Israel Alexandre; Borghi, Emerson. **Mercado de sementes de milho no Brasil: safra 2016/2017**. Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 28 p.: il. (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518- 4277; 202).
- PICCOLO A (2001) The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, 166:810-832.
- PIMENTEL, J. P. et al. Dinitrogen fixation and infection of grass leaves by *Pseudomonas rubrisubalbicans* and *Herbaspirillum seropedicae*. **Plant and Soil**, v. 137, n. 1, p. 61-65, nov. 1991.
- PRIMAVESI, A. M. **Manejo ecológico de pastagens em regiões tropicais e subtropicais**. São Paulo: Nobel, 1985, 184p.
- QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F. et al. Desempenho agrônomo a campo de híbrido de milho inoculados com *Azospirillum*. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 61, n.2, p.209-218, 2014.
- QUAGGIOTTI, Silvia et al. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 398, p. 803-813, 2004.
- RAMOS AC, Olivares FL, Silva LS, Aguiar NO, Canellas LP. Humic matter elicits proton and calcium fluxes and signaling dependent on Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinase (CDPK) at early stages of lateral plant root development. **Chem Biol Technol Agric**. 2015;1:1–12.
- RAYLE DL, Cleland RE. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. **Plant Physiol**. 1992;99:1271–4.
- REPKE, R. A., Cruz, S. J. S., Silva, C. J., Figueiredo, P. G. e Bicudo, S. J. (2013). Eficiência da *Azospirillum* brasileira combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 12, 214-226.
- RIGGS PJ, Chelius MK, Iniguez AL, Kaeppler SM, Triplett EW. Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. **Aus J Plant Physiol**. 2001;28:829–36.
- ROCHA, J.C.; ROSA, A.H. **Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas**. São Paulo, Editora Unesp, 2003. 120p.

SANTANA, T. M. **Desempenho de genótipos de capim-elefante inoculados com bactérias diazotróficas**. Vitória da Conquista, BA: UESB, 2017. 86p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).

SANTOS, J. S. **Seleção e eficiência de estirpes nativas de bactérias diazotróficas isoladas de plantas de milho e arroz**. Vitória da Conquista – BA: UESB, 2018. 88 Pag. (Tese – Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).

SANTOS, Joelma da Silva. **ISOLAMENTO E INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA CULTURA DO MILHO CULTIVADOS EM VITÓRIA DA CONQUISTA – BA**. 97 p. (Mestrado em Agronomia, Fitotecnia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, Vitória da Conquista – BA, 2013.

SANTOS, P. C. dos; SILVA, M. P. S. da; FREITAS, S. de J.; BERILLI, S. da S.; ALTOÉ, J. A.; SILVA, A. de A.; CARVALHO, A. J. C. de. Ácidos húmicos e brassinosteróide no crescimento e estado nutricional de rebentos de coroas de abacaxi. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 4, p. 532-537, 2014.

SANTOS, R.V. & MURAOKA, T. **Interação salinidade e fertilidade do solo** In: GHEYI, H.R.; QUEIROZ, J.E. & MEDEIROS, J.F., eds. Manejo e controle da salinidade na agricultura irrigada. Campina Grande, Universidade Federal da Paraíba, 1992. p.289-317.

SCHIAVON, Michela et al. High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.). **Journal of chemical ecology**, v. 36, n. 6, p. 662-669, 2010.

SILVA SF, Olivares FL, Canellas LP. The biostimulant manufactured using diazotrophic endophytic bacteria and humates is effective to increase sugarcane yield. **Chem Biol Technol Agric**. 2017;4:24.

SILVA, L.S.; CAMARGO, F.A.O.; CERRETA, C.A. Composição da fase sólida orgânica do solo. In: MEURER, E.J. (Ed.). Fundamentos de química do solo. Porto Alegre: Gênese, 2000. 174p.

SILVA, R. M. da ; JABLONSKI, A. ; MORSELLI, T. B. G. A. ; GARCIA, S. S. ; KROTH, P. L. . Produção de alface cultivado em solução nutritiva completa com adição de substâncias húmicas extraídas de sete carvões minerais.. **Revista Científica Rural** , Bagé - RS, v. 5, n.1, p. 13-23, 2000b.

SILVA, R. M. da ; JABLONSKI, A. ; SIEWERDT, L. ; SILVEIRA JÚNIOR, P. ; KROTH, P. L. Concentrações de macro e quantidades de micronutrientes na matéria seca de azevém anual cultivado em solução nutritiva adicionada de substâncias húmicas.. **In: Reunion latinoamericana**

**de produccion animal**, 2000, montevideo, uruguay. Cd-rom da xvi reunion latinoamericana de produccion animal, 2000a. V. 1.

SILVI, S.; BARGHINI, P.; AQUILANTI, A.; JUAREZ-JIMENEZ, B.; FENICE, M. Physiologic and metabolic characterization of a new marine isolate (BM39) of *Pantoea* sp. producing high levels of exopolysaccharide. **Microbial Cell Factories**, 2013.

SOUSA, F.G. **Isolamento, identificação e seleção de bactérias diazotróficas promotoras de crescimento vegetal associadas à cultura do sorgo, em solos de diferentes biomas**. Vitória da Conquista – BA: UESB, 2017. (Tese – Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia)

SOUZA, ECA de; ANDREOTTI, Marcelo; CRUSCIOL, C. A. C. Componentes morfológicos e produção de matéria seca de milho em função da aplicação de calcário e zinco. **Scientia agrícola**, v. 58, n. 2, p. 321-327, 2001.

SOUZA, Rocheli de; AMBROSINI, Adriana; PASSAGLIA, Luciane MP. Plant growthpromoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and Molecular Biology**, v. 38, n. 4, p. 401-419, 2015.

SUTTON R & SPOSITO G (2005) Molecular structure in soil humic substances: the new view. **Environmental Science & Technology**, 39:9009-9015.

SYSTAT SOFTWARE Inc.-SSI. **Sigmaplot for Windows, version 12**. 2006. Disponível em: <http://www.systat.com/products/sigmaplot/>. Acesso em junho, 2018.

TAHIR, M. M., Khurshid, M., Khan, M. Z., Abbasi, M. K., & Kazmi, M. H. (2011). Lignite-derived humic acid effect on growth of wheat plants in different soils. **Pedosphere**, 21(1), 124-131.

TARRAND, J. J.; KRIEG, N. R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, 1978, 24, 967-980.

TEJADA M & GONZALEZ JL (2004) Effect of foliar application of a byproduct of the two-step olive oil mill process on rice yield. **European Journal of Agronomy**, 21:31-40.

TREVISAN S, Botton A, Vaccaro S, Vezzaroa A, Quaggiotti S, Nardia S. Humic substances affect Arabidopsis physiology by altering the expression

of genes involved in primary metabolism, growth and development. **Environ Exp Bot.** 2011;74:45–55.

USDA. 2018. United States Department Of Agriculture. World agricultural production. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em: 28 de junho, 2018.

VAN LOON LC (2007) Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. **Eur J Plant Pathol** 119:243–254. doi:10.1007/s10658-007-9165-1.

VELOSO, S. R.; FERNANDES, M. S. NITROGENIO. In Nutrição mineral de plantas. Viçosa, MG: **Sociedade Brasileira de Ciência do solo**, 2006, 432p.

VIDEIRA, S. S., Oliveira, D. M., Morais, R. F., Borges, W. L., Baldani, V. L. D. e Baldani, J. I. (2012). Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two *Pennisetum purpureum* Schum. genotypes grown in the field. **Plant and Soil**, 356, 51-66. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-011-1082-6>.

WU SC, Cao ZH, Li ZG, Cheung KC, Wong MH (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. **Geoderma** 125:155-166.

ZANDONADI, D.B.; CANELLAS, L.P. & FACANHA, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, 225:1583-1595, 2006.