

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS  
DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE ARROZ, MILHO E TRIGO**

**Franciane Lemes dos Santos  
(Tese de Doutorado)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS  
DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE ARROZ, MILHO E TRIGO**

FRANCIANE LEMES DOS SANTOS  
Engenheira Agrônoma (UEMS)  
Mestre em Produção Vegetal (UFG)

Tese apresentada como  
um dos requisitos à obtenção do  
Grau de Doutor em Ciência do Solo

Porto Alegre (RS) Brasil  
Março de 2018

#### CIP - Catalogação na Publicação

Santos, Franciane Lemes dos  
INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS  
PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE ARROZ, MILHO  
E TRIGO / Franciane Lemes dos Santos. -- 2018.  
95 f.  
Orientador: Enilson Luiz Saccol de Sá.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência do Solo, Porto Alegre, BR-RS,  
2018.

1. Azospirillum sp. . 2. poáceas. 3. produção de  
grãos. 4. promoção de crescimento. 5. rizóbios. I. Sá,  
Enilson Luiz Saccol de, orient. II. Título.

*“Eu não poderia imaginar as coisas que me aconteceriam. O início foi incerto, confuso e incomum, onde todos os estranhos faziam parte da minha vida, onde todos os cantos teriam histórias escondidas. Fiz amigos, muitos dos quais, me acompanharão para sempre. Esse é um momento especial! É hora de olhar para trás e ver por tudo o que já passei. Sem dúvida, muitas tristezas e conflitos, mas felizmente, por inúmeros bons momentos, de alegria, de vitórias e de cumplicidade. Devo esquecer aqueles que me impuseram obstáculos infundados, e agradecer àqueles que me impulsionaram adiante. É hora, mais do que nunca, de valorizar as amizades e os conhecimentos adquiridos aqui. Pois, se nada tenho, por tudo lutei; e sem me arrepender de nada...No futuro poderei dizer: Tentei!...E, mesmo que a fortuna venha a mim; Por tudo que Deus me deu, direi a todos: **venci!**”*

(Autor desconhecido)

*Aos meus pais, Francisco e Fátima, que me ensinaram os verdadeiros valores da vida, e à minha irmã Ravena, pelo carinho e apoio, sendo essenciais no cumprimento desta jornada, dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente ao nosso Pai criador, que meu deu o dom da vida, por ter me iluminado e dado força para concluir esta etapa.

Ao Programa de Pós-Graduação (PPG) em Ciência do Solo da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pela oportunidade de realização do curso de doutorado, infraestrutura oferecida e conhecimento transmitido.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento de bolsa de estudo durante o doutorado.

Ao meu orientador, professor Enilson Luiz Saccol de Sá, por ter me acolhido, e acreditando no meu trabalho, deu-me a liberdade necessária, me auxiliando com idéias enriquecedoras do início ao final desta etapa. Obrigada pela dedicação e paciência comigo durante este período em que convivemos. Meu respeito, admiração e carinho.

Aos professores do PPG Ciência do Solo e demais programas, onde cursei disciplinas, por terem transmitido os seus conhecimentos.

Aos funcionários do Departamento de Solos e Estação Agronômica da UFRGS, em especial, ao Jader Amaro e ao José Ferreira (Seu Zé), sempre muito prestativos.

Ao PPG em Fitotecnia, Departamento de Plantas de Lavoura e ao Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), por cederem as áreas para condução dos experimentos.

Ao professor Christian Bredemeier, pela parceria científica, pelos inúmeros ensinamentos durante a condução dos experimentos e pela amizade.

Aos meus pais Francisco e Fátima que no decorrer da minha vida, proporcionaram-me, além de extenso amor e carinho, os conhecimentos de integridade, de perseverança e de procurar sempre em Deus à força maior para o desenvolvimento como ser humano. A vocês minha imensa gratidão e sempre amor.

A minha querida “maninha” Ravena que esteve sempre ao meu lado, sendo seu apoio irrestrito em todos os momentos, se privando de muitas coisas em sua vida para eu alcançar meu objetivo. Muito obrigada Rá.

Ao André, pela ajuda no campo, no laboratório e nos estudos, além do companheirismo nos momentos bons e principalmente nos ruins. Obrigada pelo amor, apoio, paciência e incentivo em todos os momentos.

A minha família, que nos momentos de minha ausência dedicados aos estudos, sempre fizeram entender que o futuro, é feito a partir da constante dedicação no presente. Meus agradecimentos com imenso carinho.

Aos colegas da UFRGS e do PPG Ciência do Solo, pela convivência, ajudas, amizades e confraternizações durante o doutorado.

Aos colegas de laboratório, pelo companheirismo, amizade, risadas, auxílios e paciência, em especial: Bruna Winck, Carolina Castilho, Clarissa Borges, Franquiéle Bonilha, Gleidson Rieff, Juan Cubillos, Marcia Orantas, Marcio Silveira, Priscila De Gregório, Renata Bataioli, Tais Backes e Victor Bassani. Obrigada por todos os momentos, as lembranças deste período levarei comigo por toda vida.

Aos membros da banca, pela participação e colaboração neste trabalho.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização desta etapa e para minha formação profissional. Obrigada!

# INOCULAÇÃO E COINOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM PLANTAS DE ARROZ, MILHO E TRIGO<sup>1</sup>

Autor: Franciane Lemes dos Santos

Orientador: Prof. Enilson Luiz Saccol de Sá

## RESUMO

A utilização das técnicas de inoculação e coinoculação de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) pode ser uma alternativa com grande potencial para o mercado agrícola, visando uma maior eficiência no uso de fertilizantes e conseqüentemente redução do impacto ambiental. Os rizóbios também apresentam capacidade para a promoção do crescimento de poáceas, grupo de plantas no qual essas bactérias não realizam a fixação simbiótica de nitrogênio. Nesse contexto, a principal hipótese do trabalho é que o desenvolvimento de poáceas é beneficiado quando as plantas são inoculadas com RPCPs. O objetivo geral deste trabalho foi verificar a capacidade de rizóbios em promover o crescimento dos cereais: arroz, milho e trigo, inoculados isoladamente e coinoculados com *Azospirillum brasilense*. Os experimentos foram realizados a campo e em casa de vegetação, com plantas de arroz, milho e trigo, inoculadas e coinoculadas com os rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense*, e sob níveis de doses de nitrogênio recomendadas para cada espécie vegetal. A inoculação de rizóbios, isoladamente ou em coinoculação com *A. brasilense* promove aumentos de produção de grãos de milho híbrido (Morgan 30A77PW) em manejo sequeiro e irrigado. Em áreas de pousio a coinoculação do rizóbio UFRGS Lc348+*A. brasilense* mantém o rendimento de grãos de arroz (cultivar IRGA 424), com 60% da dose nitrogênio recomendada. Já em safras com inoculações sucessivas na área de plantio, todos os tratamentos com RPCPs e 60% da dose de nitrogênio, mantém o rendimento de grãos. Em plantas de trigo (cultivares TBIO Sossego e BRS Parrudo), a inoculação e coinoculação aumentam o rendimento de grãos. A cinética de absorção de nitrogênio em plantas de milho híbrido (Morgan 30A77PW) é modificada pela inoculação com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348 tanto de forma isolada, ou coinoculada com *A. brasilense*.

---

<sup>1</sup> Tese de doutorado em Ciência do Solo. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. (83 p.). Março, 2018. Trabalho realizado com apoio financeiro da Capes e do CNPq.

# INOCULATION AND COINOCULATION OF GROWTH PROMOTING RIZOBACTERIA IN RICE, MAIZE AND WHEAT PLANTS<sup>2</sup>

Author: Franciane Lemes dos Santos

Adviser: Enilson Luiz Saccol de Sá

## ABSTRACT

The use of inoculation and coinoculation techniques of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) can be an alternative with great potential for the agricultural market, aiming at a greater efficiency in the use of fertilizers and consequently reduction of environmental impact. Rhizobia also have the capacity to promote the growth of grasses, a group of plants in which these bacteria do not perform symbiotic nitrogen fixation. In this context, the main hypothesis of the work is that the development of grasses benefits when the plants are inoculated with PGPR. The general objective of this work was to verify the rhizobia of capacity to promote cereal growth: rice, maize and wheat, inoculated in isolation and coinoculated with *Azospirillum brasilense*. The experiments were carried out in the field and in a greenhouse with rice, maize and wheat plants, inoculated and coinoculated with the rhizobia UFRGS Vp16 and UFRGS Lc348, and *A. brasilense*, and under levels of nitrogen rates recommended for each plant species. The inoculation of rhizobia, alone or in combination with *A. brasilense*, promotes hybrid maize grain yield increases (Morgan 30A77PW) in dry and irrigated management. In fallow areas the coinoculation of the rhizobia UFRGS Lc348 + *A. brasilense* maintains the yield of rice grains (cultivar IRGA 424), with 60% of the recommended nitrogen dose. In crops with successive inoculations in the plantation area, all the treatments with PGPR and 60% of the nitrogen dose, maintain the yield of grains. In wheat plants (cultivars TBIO Sossego and BRS Parrudo), inoculation and coinoculation increase the yield of grains. Nitrogen uptake kinetics in hybrid maize plants (Morgan 30A77PW) is modified by inoculation with rhizobia UFRGS Vp16 and UFRGS Lc348 either in an isolated form, or coinoculated with *A. brasilense*.

---

<sup>2</sup> Doctoral thesis in Soil Science – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (83 p.). March, 2018. Research supported by CNPq and CAPES.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>2. CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
2.1. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) .....	3
2.2. Rizóbios como organismos promotores de crescimento de plantas.....	6
2.3. Azospirillum como organismos promotores de crescimento de plantas ...	8
2.4. Inoculação em lavouras de arroz .....	9
2.5. Inoculação em lavouras de milho .....	11
2.6. Inoculação em lavouras de trigo.....	12
2.7. Inoculação e coinoculação de RPCPs.....	13
<b>3. CAPÍTULO II – Desempenho agrônomo de plantas de milho inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento</b> .....	16
<b>4. CAPÍTULO III – Inoculação e coinoculação de rizobactérias promotoras de crescimento em plantas de arroz irrigado</b> .....	26
<b>5. CAPÍTULO IV – Potencial de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de trigo</b> .....	35
<b>6. CAPÍTULO V – Cinética de absorção de nitrogênio em plantas de milho inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento</b> .....	45
<b>7. CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	58
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	60
<b>9. APÊNDICES</b> .....	82
<b>10. RESUMO BIOGRÁFICO</b> .....	83

## RELAÇÃO DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Componentes de rendimento (número de espigas, produção de grãos por espiga e peso de 100 grãos) de plantas de milho inoculadas com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e <i>A. brasilense</i> nas safras 2015/2016 sob manejo sequeiro e safra 2016/2017 sob manejo irrigado.....	21
<b>Tabela 2.</b> Rendimento de grãos de milho ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) em função de inoculação e coinoculação rizóbios e <i>Azospirillum</i> nas safras 2015/2016 sob manejo sequeiro e safra 2016/2017 sob manejo irrigado.....	22
<b>Tabela 3.</b> Identificação e descrição dos tratamentos.....	28
<b>Tabela 4.</b> Componentes de rendimento (número de panículas/ $\text{m}^2$ , número de grãos/panícula e peso de 1000 grãos) de plantas de arroz inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, safras 2014/15 e 2015/16.....	30
<b>Tabela 5.</b> Componentes de rendimento (matéria seca da parte aérea, número de espigas por metro quadrado, peso hectolítrico e peso de 1000 grãos) de plantas de trigo inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas.....	40
<b>Tabela 6.</b> Rendimento de grãos de trigo em função de inoculação e coinoculação com rizóbios e <i>Azospirillum brasilense</i> .....	42
<b>Tabela 7.</b> Parâmetros cinéticos de absorção ( $K_m$ e $V_{max}$ ) de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em plantas de milho submetidas à dose de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de nitrogênio.....	49
<b>Tabela 8.</b> Parâmetros cinéticos de absorção ( $K_m$ e $V_{max}$ ) de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em plantas de milho submetidas à dose de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de nitrogênio.....	50

<b>Tabela 9.</b> Parâmetros cinéticos de absorção ( $K_m$ e $V_{max}$ ) de nitrato ( $NO_3^-$ ) em plantas de milho submetidas à dose de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de nitrogênio.....	50
<b>Tabela 10.</b> Parâmetros cinéticos de absorção ( $K_m$ e $V_{max}$ ) de nitrato ( $NO_3^-$ ) em plantas de milho submetidas à dose de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de nitrogênio.....	51
<b>Tabela 11.</b> Equações de regressão dos tratamentos inoculados e coinoculados com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e Azospirillum brasilense para a concentração de $NH_4^+$ e $NO_3^-$ em solução nutritiva Sarruge.....	53

## RELAÇÃO DE FIGURAS

- Figura 1.** Eficiência relativa da inoculação e coinoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense* no rendimento de grãos de plantas de milho.....23
- Figura 2.** Rendimento de grãos de plantas de arroz inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, safras 2014/15 e 2015/16. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,15, Scott-Knott). Letras maiúsculas safra 2014/15, letras minúsculas safra 2015/16.....32
- Figura 3.** Eficiência relativa da inoculação e coinoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense* no rendimento de grãos de plantas de arroz.....33
- Figura 4.** Eficiência relativa da inoculação e coinoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense* no rendimento de grãos de plantas de trigo.....43
- Figura 5.** Concentração de  $\text{NH}_4^+$  em solução nutritiva Sarruge com cultivo de plantas de milho inoculadas com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *Azospirillum brasilense*, em doses de 1mmol L<sup>-1</sup> (N) e 0,5 mmol L<sup>-1</sup> (N/2) de nitrogênio.....54
- Figura 6.** Concentração de  $\text{NH}_4^+$  em solução nutritiva Sarruge com cultivo de plantas de milho coinoculadas com rizóbios UFRGS Vp16+*Azospirillum brasilense* e UFRGS Lc348+*Azospirillum brasilense*, em doses de 1mmol L<sup>-1</sup> (N) e 0,5 mmol L<sup>-1</sup> (N/2) de nitrogênio.....55
- Figura 7.** Concentração de  $\text{NO}_3^-$  em solução nutritiva Sarruge com cultivo de plantas de milho inoculadas com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e

Azospirillum brasilense, em doses de  $1\text{mmol L}^{-1}$  (N) e  $0,5\text{ mmol L}^{-1}$  (N/2) de nitrogênio.....55

**Figura 8.** Concentração de  $\text{NO}_3^-$  em solução nutritiva Sarruge com cultivo de plantas de milho coinoculadas com rizóbios UFRGS Vp16+Azospirillum brasilense e UFRGS Lc348+Azospirillum brasilense, em doses de  $1\text{mmol L}^{-1}$  (N) e  $0,5\text{ mmol L}^{-1}$  (N/2) de nitrogênio.....56

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O setor agrícola é uma das atividades socioeconômica mais importante do nosso país. Nos últimos anos, o Brasil se consolidou como um dos maiores produtores e exportadores mundiais de alimentos, com área plantada de 60 milhões de hectares, sendo que desses, 22 milhões estão na região sul (CONAB, 2017). O estado do Rio Grande do Sul se destaca nesta região, pois é o terceiro maior produtor nacional de grãos (15,3%). Este resultado se dá pela combinação de fatores como clima propício, investimento em tecnologia e extensão territorial cultivável.

Entretanto, a produtividade das lavouras do estado é comprometida pelas características nutricionais desfavoráveis do solo, especialmente as limitações nos teores de nitrogênio. A utilização em excesso de adubos nitrogenados para suprir esta carência nutricional é uma prática bastante disseminada em áreas agrícolas. Esta prática torna o adubo nitrogenado um dos mais consumidos no mundo e o que mais influencia no custo de produção de um cultivo.

Uma alternativa sustentável para o mercado agrícola, visando à redução do uso de fertilizantes e, conseqüentemente, o custo de produção, é a utilização de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs). Estas bactérias já são bastante estudadas no processo de fixação simbiótica de nitrogênio em leguminosas, que é uma das mais importantes formas de promoção de crescimento de plantas induzido por bactérias. No entanto, pouco se tem estudado sobre o potencial dos rizóbios para a promoção do crescimento de poáceas, grupo de plantas no qual essas bactérias não realizam a fixação biológica de nitrogênio, mas podem estimular o crescimento vegetal por diversos outros mecanismos, como produção de substâncias fitorreguladoras, aumento da disponibilidade de fósforo e biocontrole de fitopatógenos.

Neste sentido, se faz importante o estudo da utilização de rizóbios na forma de inoculantes biológicos para poáceas, pois pode ser uma das tecnologias mais eficientes em substituir métodos tradicionais de adubação nitrogenada no mercado agrícola, levando às hipóteses que: o desenvolvimento de plantas de arroz, milho e trigo é beneficiado quando as plantas são inoculadas com bactérias promotoras de crescimento, e a inoculação de plantas de arroz, milho e trigo com bactérias promotoras de crescimento possibilita a redução da dose de fertilizante nitrogenado, mantendo os níveis de produtividade.

Assim, o trabalho tem como objetivo geral avaliar a capacidade de rizóbios em promover o crescimento dos cereais arroz, milho e trigo. Como objetivos específicos: (a) avaliar a interação entre adubação nitrogenada e a promoção de crescimento por rizóbios em plantas de arroz, milho e trigo; (b) avaliar a eficiência da inoculação e coinoculação de rizóbios e bactérias diazotróficas endofíticas, na promoção de crescimento de plantas de arroz, milho e trigo; (c) avaliar a cinética de absorção de nitrogênio em plantas de milho inoculadas e coinoculadas com rizóbios e bactérias diazotróficas endofíticas.

## **2. CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs)**

A rizosfera é um ambiente edáfico conhecido por hospedar uma ampla variedade de bactérias. Várias destas bactérias não só colonizam a rizosfera e o rizoplane, mas também podem penetrar nas plantas, colonizando os tecidos internos do vegetal, estabelecendo assim, associações benéficas e desempenhando importante papel na manutenção e/ou incremento do crescimento vegetal, quer seja em ecossistemas naturais ou manejados (Compant et al., 2010), podendo ser utilizadas para a promoção de crescimento plantas (Hallmann, 2001; Compant et al., 2005; Sessitsch et al., 2004; Hallmann & Berg, 2006) para melhoria da produção agrícola.

O termo rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) foi proposto por Kloepper e Schroth (1978) e provém da expressão “plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)”, que é aceita pela comunidade científica internacional para expressão que designa esse grupo. As RPCPs foram submetidas a inúmeros estudos focados em aplicações biotecnológicas na agricultura, horticultura, silvicultura e proteção ambiental (Zahir et al., 2004). Estudos iniciais na década de 1950 começaram com foco em bactérias fixadoras de nitrogênio. Desde então, um grande número de RPCPs pertencentes a diferentes classes e gêneros foram descritos (Rodriguez-Diaz et al., 2008).

O modo de ação das RPCPs ainda não é plenamente conhecido, mas pode ser de forma direta: estimulando a fixação de nitrogênio, solubilizando nutrientes (principalmente ferro, enxofre e fosfatos inorgânicos e

insolúveis), produzindo fitohormônios (ácido indol acético (AIA), giberelinas e citocininas) e exopolissacarídeos (Cattelan, 1999; Dobbelaere et al., 2003; Hara & Oliveira, 2004; Han et al., 2005; Banerjee et al., 2006; Marra et al., 2011; Ahemad & Kibret, 2014); e também de forma indireta: reduzindo os danos causados por fitopatógenos por mecanismos tais como produção de sideróforos, quitinases, glucanases e antibióticos (Renwick et al., 1991). As RPCPs podem usar mais do que um destes mecanismos simultaneamente para aumentar o crescimento vegetal (Hahn, 2013).

Em geral, mecanismos diretos são aqueles que afetam o equilíbrio dos reguladores de crescimento da planta, aumentando o estado nutricional da planta e estimulando mecanismos de resistência sistêmica (Zahir et al, 2004; Glick et al., 2007). Estes mecanismos levaram à aplicação de termos genéricos para as RPCPs, incluindo: biofertilizante, fitoestimulador e biopesticida (Okon & Kapulnik, 1986; Spaepen et al., 2007; Martínez-Viveros et al, 2010). Os mecanismos indiretos estão relacionados ao controle biológico, incluindo a produção de antibióticos, a quelação do Fe disponível na rizosfera, a síntese de enzimas extracelulares que hidrolizam a parede celular fúngica e a competição por nichos dentro da rizosfera (Zahir et al, 2004; Glick et al, 2007).

Além de realizarem a fixação biológica de nitrogênio (FBN), algumas rizobactérias exercem papel importante na solubilização de fosfatos inorgânicos insolúveis. A utilização de RPCPs capazes de fixar nitrogênio e solubilizar fosfato inorgânico aumenta a disponibilidade desses nutrientes para o crescimento de plantas leguminosas e não leguminosas (Peix et al., 2001; Vessey et al., 2003), substituindo ou diminuindo a utilização de fertilizantes nitrogenados e fosfatados (Oliveira, 2011; Marra et al., 2012).

Depois da FBN, a produção de hormônios vegetais é considerada o mais importante modo de ação na promoção de crescimento de plantas por rizobactérias (Osório Filho, 2009). Estes fitohormônios exercem diversas funções no ciclo de vida dos vegetais, entre elas o desenvolvimento de meristemas apicais, estímulo da divisão e crescimento celular, crescimento de raízes, aumento do número de pelos radiculares, além de estimular a germinação (Tsavkelova et al., 2007; Quiala et al., 2012; Ruedell et al., 2013 ).

As substâncias fito estimuladoras produzidas por RPCPs mais estudadas são os hormônios pertencentes ao grupo das auxinas, particularmente o ácido indol-acético (AIA) (Hayat et al., 2010). As RPCPs sintetizam o AIA, promovendo, assim, o crescimento das raízes e a proliferação de pelos radiculares, melhorando a absorção de água e nutrientes do solo e, conseqüentemente, melhorando o desenvolvimento da planta (Caballero-Mellado et al., 2006; Taiz & Zeiger, 2013 ).

Existem outros grupos de hormônios de crescimento vegetal produzidos por rizobactérias, como as giberelinas e citocininas, que também podem influenciar o crescimento e o desenvolvimento das plantas. As giberelinas estão relacionadas ao alongamento do caule e folhas, germinação de sementes e retardamento do envelhecimento dos tecidos vegetais (Davies, 1995; Aoyama et al., 1996; Jaleel et al., 2007); já as citocininas são relatadas como indutoras da divisão celular, desenvolvimento parte aérea e radicular, e formação de pêlos radiculares (Frankenberger & Arshad, 1995; Moura et al., 2012).

Outra forma de promoção de crescimento vegetal que está diretamente ligada as RPCPs é a produção de exopolissacarídeos. Os rizóbios sintetizam polissacarídeos e excretam polímeros solúveis ou insolúveis, para fora das células (Seesuriyachan et al., 2012). Estes exopolissacarídeos produzidos pelas RPCPs interagem com as plantas, auxiliando na sobrevivência do vegetal, permitindo adaptação a várias situações de estresses ambientais como o salino, variações de temperatura e estresse hídrico (Silva, 2014). Os exopolissacarídeos possibilitam vida livre à bactéria, permitindo a aderência e colonização às superfícies sólidas onde os nutrientes se acumulam, além de que, estas substâncias envolvem as membranas das células protegendo-as do dessecamento e de outros estresses ambientais, além de ajudar na fixação de nutrientes próximos à bactéria (Flemming et al., 2010; Barreto et al., 2011; Liu et al., 2013).

Do ponto de vista biotecnológico, as rizobactérias que possuem mais de um dos mecanismos para a promoção de crescimento vegetal são almeçadas e rastreadas para uma possível aplicação no campo, objetivando o

aumento da produção agrícola (Verma et al., 2001), de forma mais econômica e sustentável.

## **2.2. Rizóbios como organismos promotores de crescimento de plantas**

Os rizóbios são considerados o principal grupo de diazotróficos simbióticos, por sua importância agrônômica na fixação de nitrogênio (Stroschein, 2007; Graças et al., 2015). Estes microrganismos são bactérias gram negativas, aeróbicas não esporulantes, pertencentes ao filo *Proteobacteria* (Zakhia & Laujudie, 2001). Quando não estão em associação com plantas, os rizóbios são bactérias de vida livre e hábito alimentar saprofítico.

A classificação dos rizóbios esteve em constante alteração nos últimos anos. Atualmente, são conhecidas mais de 100 espécies distribuídas em 16 gêneros, dentre eles: *Rhizobium*, *Mezorhizobium*, *Ensifer* (anteriormente *Sinorhizobium*), *Bradyrhizobium*, *Phyllobacterium*, *Microvirga*, *Azorhizobium*, *Ochrhobactrum*, *Methylobacterium*, *Devosia*, *Shinella*, *Neorhizobium*, *Pararhizobium* (Classe de  $\alpha$ -proteobactérias), *Burkholderia*, *Paraburkholderia* (anteriormente *Burkholderia*) *Cupriavidus* (anteriormente *Ralstonia*) (Classe de  $\beta$ -proteobactérias) (Velázquez et al., 2017).

Estas bactérias realizam simbiose com as plantas da família Leguminosae, que se caracteriza pela formação de estruturas hipertróficas nas raízes e, excepcionalmente, no caule, denominadas nódulos. Essa capacidade de fixar nitrogênio biologicamente ocorre devido ao complexo enzimático nitrogenase, que são capazes de romper a tripla ligação do  $N_2$  atmosférico reduzindo-o a amônia ( $NH_3^+$ ), uma forma prontamente assimilável pela planta (Cantarella, 2007; Berrada & Fikribenbrahim, 2014; Mus et al., 2016).

As vantagens da simbiose entre os rizóbios e as leguminosas são várias, incluindo maior produtividade agrícola, manutenção e restauração da fertilidade do solo, economia de fertilizantes com preços altos e diminuição da

poluição de águas subterrâneas por nitratos, sendo, portanto, uma significativa função ecológica e econômica (Lyra et al., 2013; Cavalcante et al., 2016).

Em virtude da rápida colonização dessas bactérias na rizosfera e estimulação no crescimento da planta, existe considerável interesse em pesquisar o potencial biotecnológico dos rizóbios, visando otimizar a produção da cultura de interesse, seja ela leguminosa ou poácea.

A colonização de rizóbios em poáceas ocorre diferentemente do que em leguminosas (Reddy et al, 1997; Webster et al., 1997; Yanni et al., 1997; Chi et al., 2005). As bactérias colonizam as raízes, caules e folhas da poácea, penetrando no interior do tecido vegetal através de fissuras radiculares ou nas inserções das raízes secundárias (Reddy et al., 1997; Dobbelaere et al., 2003), sem causar sintomas de doenças e estimulando o crescimento destes vegetais através de mecanismos diretos e indiretos já citados.

Na interação rizóbio e poáceas não há formação de nódulos, não ocorrendo, assim, a FBN. No entanto, a inoculação com rizóbios estimula a germinação de sementes, o crescimento e o desenvolvimento de plantas não leguminosas (Chi et al., 2005, Singh et al., 2006; Yanni et al., 2001). Em estudos a campo, Panwar & Singh (2000) observaram que as RPCPs podem aumentar o teor de N e P nos tecidos das plantas, e atribuíram o fato a um maior crescimento das raízes, estimulado provavelmente pelos microrganismos.

Vários trabalhos demonstram a eficiência da inoculação de rizóbios na promoção de crescimento de poáceas, como em arroz (Yanni et al., 1997; Biswas et al., 2000; Osório Filho et al., 2014), cevada (Miransari & Smith, 2009), milho (Hahn et al., 2014), capim Tanzânia e pensacola (Machado et al., 2011), milheto e sorgo (Machado, 2015). No entanto, a tecnologia de inoculação de rizóbios em poáceas ainda é subaproveitada no Brasil, e está longe de ter todo o seu potencial utilizado pelo setor agropecuário nacional.

### **2.3. *Azospirillum* como organismos promotores de crescimento de plantas**

O gênero *Azospirillum* contempla rizobactérias associativas e que se encaixam no grupo dos diazotróficos endofíticos facultativos (Döbereiner & Baldani, 1982), uma vez que tem a capacidade de colonizar tanto o interior das plantas quanto a rizosfera. Estes micro-organismos são bactérias gram negativas, aeróbicas, não fermentativas, vibróides, pertencentes ao filo Proteobactéria (Reis et al., 2007), com capacidade de interagir com uma ampla variedade de plantas, principalmente as da família *Poaceae* (poáceas) de importância agrícola e econômica (Povineli, 2012).

Atualmente, o gênero *Azospirillum* possui quinze espécies identificadas: *A. lipoferum* e *A. brasilense* (Tarrand et al., 1978); *A. amazonense* (Magalhães et al., 1983); *A. halopraeferens* (Reinhold et al., 1987); *A. irakense* (Khammas et al., 1989); *A. largomobile* (Dekhil et al., 1997); *A. doebereineriae* (Eckert et al., 2001); *A. oryzae* (Xie & Yokota, 2005); *A. melinis* (Peng et al., 2006); *A. canadense* (Mehnaz et al., 2007a); *A. zae* (Mehnaz et al., 2007b); *A. rugosum* (Young et al., 2008); *A. palatum* (Zhou et al., 2009); *A. picis* (Lin et al., 2009) e *A. thiophilum* (Lavrinenko et al., 2010), mas em termos de fisiologia e genética, a mais estudada é a *A. brasilense* (Reis et al., 2007).

Estas bactérias tem capacidade de promover o crescimento vegetal através da fixação biológica do nitrogênio atmosférico (FBN) e, principalmente, pela produção de fitohormônios (Baldani & Baldani, 2005; Perrig et al., 2007). Nas associações de poáceas com RPCPs, não há formação de nódulos como acontece nas leguminosas. O que ocorre é a colonização da superfície e/ou do interior das raízes e parte aérea das plantas. Assim, a contribuição da FBN por espécies associativas, como o *Azospirillum*, na nutrição vegetal não é tão significativa como ocorre na simbiose entre rizóbios e leguminosas, ou seja, bactérias associativas excretam somente uma parte do nitrogênio fixado diretamente para a planta associada, suprindo apenas parcialmente as necessidades das plantas (Hungria et al., 2010). Entretanto, se for considerada

a grande extensão de áreas agrícolas utilizadas por poáceas, esta FBN parcial se torna importante.

A interação *Azospirillum*-planta proporciona benefício para o desenvolvimento vegetal, que é atribuído à produção de fitohormônios (auxinas, giberelinas e citocininas) as quais proporcionam maior crescimento radicular (Okon & Vanderleyden, 1997), ou seja, ocorre aumento da superfície de absorção das raízes da planta e aumento do volume de substrato do solo explorado, e por consequência maior absorção de água e nutrientes (Correa et al., 2008) resultando em plantas mais vigorosas e produtivas (Bashan et al., 2004; Hungria, 2011).

Os estudos envolvendo a inoculação de *Azospirillum* têm relatado efeitos de melhoria do crescimento, desenvolvimento e produtividade de importantes culturas agrícolas (Dartora, 2016). Dentro desse gênero, a espécie *A. brasilense* tem sido usada como inoculante em diversas culturas, com respostas benéficas demonstradas em milho (Quadros, 2009; Hungria et al., 2010; Marini et al., 2015; Muller et al., 2016), trigo (Hungria, 2011), milho (Machado, 2015) e arroz (Pedraza et al., 2009; Reichembach et al., 2011, Hahn, 2013).

A resposta da inoculação com *Azospirillum* pode variar de acordo com o genótipo da planta, condições ambientais, práticas agrícolas, bem como com a quantidade e qualidade das células bacterianas utilizadas como inoculante (Matsumura et al., 2015). Entretanto, os resultados relatados na comunidade científica mostram que esta técnica é promissora, e vai de encontro aos novos conceitos de agricultura sustentável, podendo proporcionar a redução na utilização do fertilizante nitrogenado aplicado nas lavouras.

#### **2.4. Inoculação em lavouras de arroz**

A planta de arroz (*Oryza sativa*) é uma poácea originária da Ásia, pertencente à família Poaceae. Este cereal é cultivado e consumido em todos os continentes (Fageria et al., 2004), pois se adapta às diferentes condições de

solo e clima, sendo a espécie de maior potencial para o controle da fome no mundo (Azambuja et al., 2004).

A produção mundial de arroz beneficiado estimado para safra 2017/18 é de 483,66 milhões de toneladas (USDA, 2017). O Brasil destaca-se como um dos países mais importantes quanto à produção e consumo de arroz do mundo, produzindo mais de 12 milhões de toneladas na safra 2016/17, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior produtor nacional, com 69% da produção (CONAB, 2017).

Para suprir a demanda da alta produção de arroz, grande quantidade de minerais é aplicada ao solo para se melhorar o crescimento e captação de nutrientes pelo vegetal (Silveira, 2008). Dentre esses suplementos, o nitrogênio é o mais importante, sendo necessária a aplicação de grandes doses deste nutriente (Fornasieri Filho & Fornasieri, 2006; Andreucci, 2007).

As aplicações em excesso de nitrogênio podem resultar em poluição ambiental, como a contaminação do lençol freático por nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), acidificação do solo e aumento da taxa de desnitrificação, resultando no aumento da emissão de óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) para a atmosfera (Biswas et al., 2000; Kennedy et al., 2004). Para reverter este quadro de impacto ambiental provocado pela adubação em excesso em cultivos de arroz e pelas dificuldades de equilíbrio na adubação de poáceas, existem diversos estudos com relação à aplicação e à utilização de adubos biológicos no cultivo do arroz e de outros cereais de importância econômica mundial (Silveira, 2008). Desta forma, tais adubos poderão ser substituídos por formulações constituídas, principalmente, por bactérias diazotróficas (Ferreira et al., 2003; Xie et al., 2003; Guimarães et al., 2003).

Vários estudos vêm sendo realizados, demonstrando a colonização de RPCPs em raízes de plantas de arroz e seu efeito na promoção de crescimento desta poácea (Kuss, 2007; Osorio Filho, 2009; Guimarães et al., 2010; Meireles, et al., 2015; Garcia, 2016; Gerlach, 2017). Os benefícios da inoculação de RPCPs em plantas de arroz podem ser através de: estímulo do comprimento da radícula e do prófalo, incremento da área foliar e da matéria

seca da parte área, absorção de nitrogênio, eficiência no uso da água absorvida pela planta, taxas de fotossíntese, número de panículas e o rendimento de grãos (Biswas et al., 2000; Chi et al., 2005).

A utilização de RPCPs para o aumento da produtividade em lavouras de arroz será, provavelmente, uma das práticas mais importantes para a agricultura atual (Figueiredo et al., 2010), pois a busca para a diminuição e dependência de fertilizantes químicos e a necessidade de desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável é pretendida pela sociedade (Moreira & Siqueira, 2006).

## **2.5. Inoculação em lavouras de milho**

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal de maior volume de produção mundial, tendo sido produzidos na safra 2016/17 mais de 1 bilhão de toneladas (USDA, 2017). O Brasil tem uma área cultivada com milho de 17,39 milhões de hectares e produção de 96,02 milhões de toneladas (CONAB, 2017) e é considerado um país estratégico, pois é o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador mundial de milho.

Para alcançar altos rendimentos de grãos, o cultivo do milho, assim como os demais, é dependente de diversos fatores. Além das características intrínsecas à planta e das condições climáticas da região de cultivo, o manejo também interfere na produção da lavoura (Argenta et al., 2001).

Em relação à fertilidade do solo, o nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade pelas poáceas e, por isso, é um fator limitante não só no rendimento de grãos, mas também na qualidade do produto em consequência do teor de proteína nos grãos (Amaral Filho et al., 2005). O milho expressa dependência nutricional de nitrogênio (Cancellier 2011), e para se obter altos rendimentos é necessária a suplementação mineral com fontes de adubação nitrogenada (Amado 2002; Scalco et al., 2002).

A utilização em excesso de adubos nitrogenados para suprir a necessidade nutricional dos cultivos é uma prática bastante disseminada em áreas agrícolas. Esta prática torna o adubo nitrogenado um dos mais

consumidos no mundo e o que mais influencia no custo de produção de um cultivo. Tendo em vista os custos ambientais e econômicos, se faz necessário encontrar alternativas sustentáveis para o mercado agrícola, que visem à redução do uso de fertilizantes e, portanto, do custo de produção, como também dos impactos ambientais.

Estudos tem demonstrado o grande potencial da interação RPCPs com plantas de milho (Gomes et al., 2007; Pavinato & Rosolem, 2008; Lana et al., 2009; Hungria, 2011; Kappes et al., 2014; Galindo 2016). O interesse na utilização de RPCPs nas lavouras de milho, que sejam capazes de contribuir para a nutrição das plantas, tem aumentado nos últimos anos, devido ao alto custo financeiro investido com fertilizantes e em relação ao que se busca no atual setor agrícola, uma agricultura sustentável (Hungria et al., 2010).

## **2.6. Inoculação em lavouras de trigo**

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma poácea pertencente à família Poaceae. Esta planta é cultivada mundialmente por ser considerada alimento básico devido a produção diversificada de derivados dos seus grãos (Scheuer et al., 2011). É uma espécie de estação fria, com produção mundial de 738 milhões de toneladas na safra 2016/17. No Brasil, o trigo é o cereal de inverno de maior importância na região Sul, que é a responsável por 89% da produção nacional (CONAB, 2017).

Dentre os principais fatores determinantes para uma boa produção de trigo está o fornecimento de uma adequada adubação nitrogenada (Zagonel et al., 2002). O nitrogênio é o macro nutriente mais limitante de sua produção (Rodrigues et al., 2014), pois é um elemento que participa da composição de compostos orgânicos, atuando no perfilhamento, produção de biomassa, formação de espiguetas e grãos por espiga (Bredemeier & Mundstock, 2001; Taiz & Zeiger, 2013; Vogel & Fey, 2016) . A correta aplicação do nitrogênio no trigo é fundamental, pois evita perdas e melhora a eficiência da adubação (Sala et al., 2005).

Dentro deste contexto, os fertilizantes industrializados são a principal fonte de nitrogênio disponível para o cultivo do trigo, e no intuito de se obter altas produtividades, são aplicadas doses elevadas desse nutriente (Alves et al., 2017). Este uso em excesso de nitrogênio pode resultar em danos ao meio ambiente, como acidificação do solo e eutrofização das águas, elevando os custos da produção (Binoto, 2013).

Uma alternativa do ponto de vista econômico e ambiental, para reduzir os gastos de produção e minimizar o uso de fertilizantes nitrogenados industrializados nas lavouras de trigo, seria a utilização de RPCPs (Luidwig, 2015). Considerando os benefícios da inoculação em plantas de trigo, pesquisadores já observaram uma manutenção dos perfilhos férteis, maior realocação de nitrogênio presente na biomassa nos grãos, maior desenvolvimento radicular e aumento na produtividade, com grãos mais pesados e cheios (Sala et al., 2007; Jezewski et al. 2010; Silva et al. 2005; Didonet et al. 2000).

Apesar dos resultados positivos na promoção de crescimento de plantas de trigo com a inoculação de RPCPs, estudos sobre a interação de cultivares de trigo e rizóbios ainda são escassos. Diversos autores evidenciam que existe uma relação bastante específica entre a estirpe da bactéria utilizada com a cultivar do vegetal que se deseja produzir, sendo este evento denominado de especificidade planta-bactéria (Arsac et al., 1990; Garcia de Salamone et al., 1996), e para Cantarella (2007) essa observação é uma das principais causas de inconsistência de ganhos produtivos com a utilização de RPCPs.

## **2.7. Inoculação e coinoculação de RPCPs**

A dependência de fertilizantes químicos pela agricultura atual é uma grande preocupação devido aos danos ambientais causados pelo uso em excesso desses insumos. Entre eles, destacam-se a acidificação do solo, eutrofização das águas (Binoto, 2013) e a emissão de gases de efeito estufa (Marks et al., 2013). Além de danos ambientais, outro fato que se torna

bastante relevante é a participação dos fertilizantes nos custos operacionais das lavouras, sendo em média de 27,82% (CONAB, 2016).

Esse cenário do setor agrícola demanda maiores investimentos em tecnologias que foquem na tendência da sustentabilidade, suprimindo as necessidades da geração presente, sem comprometer as necessidades das gerações futuras (Nassar & Ortiz, 2010). Neste contexto, a utilização de RPCPs é uma alternativa economicamente viável e ecologicamente sustentável para a agricultura.

A técnica agrícola de manipulação de RPCPs é chamada de inoculação, e o produto contendo as estirpes bacterianas é denominado inoculante. A inoculação pode ser realizada via semente, no sulco de semeadura ou pós-emergência (Ronsani et al., 2013).

Uma alternativa promissora e recentemente explorada no Brasil é a mistura de inoculantes contendo RPCPs, uma técnica definida como coinoculação (Hungria et al., 2013). Esta nova metodologia já é uma recomendação oficial proposta pela RELARE (Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola) desde o ano 2016, para espécies leguminosas.

Essa técnica consiste na utilização de combinações de diferentes RPCPs, os quais produzem efeito sinérgico, ou seja, os resultados produtivos quando juntos superam os obtidos quando utilizados na forma isolada (Ferlini, 2006; Bárbaro et al., 2008). Diferentemente do que ocorre em leguminosas, quando se faz a coinoculação de rizóbios em conjunto com *A. brasilense*, o efeito benéfico do rizóbio na associação se deve, na maior parte, a capacidade que a bactéria tem de produzir fitormônios, que resulta em maior desenvolvimento do sistema radicular, e, portanto, a possibilidade de explorar um volume mais amplo de solo (Bárbaro et al., 2008), enquanto que *A. brasilense* supre parcialmente o nitrogênio que a poácea necessita para seu desenvolvimento (Hungria et al., 2007).

A coinoculação é muito utilizada e estudada em outros países por apresentar uma maior produtividade comparada à técnica de inoculação

isolada (padrão) (Atieno et al., 2012). Entretanto no Brasil ela ainda não é muito explorada. Apesar de muitos anos de pesquisa, ainda se observam respostas muito variáveis com a utilização de RPCPs, o que mostra a importância e justifica a realização de novos experimentos de campo (Kappes et al., 2014).

Pesquisas com as técnicas de inoculação isolada e coinoculação devem ser aperfeiçoadas e comprovadas em várias espécies vegetais, manejos e condições edafoclimáticas, para que o produtor sinta-se seguro ao utilizar as novas tecnologias e manejos em sua lavoura, garantindo qualidade, produtividade e retorno econômico (Oliveira et al., 2014; Gerlach, 2017).

Considerando as principais limitações e desafios atuais da agricultura brasileira, e o potencial benéfico das técnicas de inoculação e coinoculação, especialmente o maior desenvolvimento do sistema radicular, com uma maior absorção de água e nutrientes, e o aumento no rendimento de grãos (Galindo et al., 2016), é necessário estudos para verificar a viabilidade de aplicação dessas tecnologias em poáceas de grande importância econômica, como o arroz, milho e trigo.

### **3. CAPÍTULO II – Desempenho agrônômico de plantas de milho inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento**

#### **INTRODUÇÃO**

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal de maior volume de produção mundial, sendo produzidos cerca de 1 bilhão de toneladas (USDA, 2017). No Brasil a área cultivada com milho em 2017 foi de 17,39 milhões de hectares e a produção de 96,02 milhões de toneladas (CONAB, 2017), o que torna o país o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador mundial de milho.

Para alcançar altos rendimentos de grãos, o cultivo do milho depende de diversos fatores que além das características intrínsecas à planta e das condições climáticas da região de cultivo, também o manejo dado à cultura interfere na produção da lavoura (Argenta et al., 2001). Em relação à fertilidade do solo, o nitrogênio é o nutriente requerido em maior quantidade pelas poáceas e, por isso, é um fator limitante não só no rendimento de grãos, mas também na qualidade do produto (Amaral Filho et al., 2005).

A utilização de adubos nitrogenados em excesso visando suprir a necessidade nutricional das culturas é uma prática bastante disseminada em áreas agrícolas, o que torna o adubo nitrogenado um dos mais consumidos no mundo, e o que mais influencia no custo de produção de um cultivo (Silva et al., 2005, Teixeira Filho et al., 2010; Melo et al., 2011). A alta demanda por fertilizantes nitrogenados, aliado ao seu elevado custo, tem direcionado as pesquisas para a utilização de técnicas que sejam mais sustentáveis para o mercado agrícola (Saikia & Jain, 2007).

A utilização de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) representa uma importante estratégia para uma produção agrícola de forma mais sustentável. As RPCPs podem estimular o crescimento das plantas

por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de nitrogênio (Huergo et al., 2008); produção de hormônios como auxinas, citocininas, giberilinas, etileno e uma variedade de outras moléculas (Perrig et al., 2007); solubilização de fosfato (Rodriguez et al., 2004), e como agente de controle biológico de patógenos (Correa et al., 2008). No geral, as RPCPs beneficiam o desenvolvimento vegetal por uma combinação de todos esses mecanismos (Dobbelaere et al, 2003).

A eficiência da inoculação de RPCPs tem sido demonstrada em várias poáceas como: arroz (Yanni et al., 1997; Biswas et al., 2000; Osório Filho et al., 2014), cevada (Miransari & Smith, 2009), capim Tanzânia e pensacola (Machado et al., 2011), milho e sorgo (Machado, 2015), e no milho (Gutierrez-Zamora & Romero, 2001, Bécquer et al., 2011, Hahn et al., 2013). Nos casos citados, o crescimento vegetal está ligado a fatores como a maior germinação em casa de vegetação e a campo, melhor absorção de nutrientes, aumento tanto na biomassa quanto na altura das plantas e maior produção de grãos.

As RPCPs quando inoculadas nas plantas, em formulações simples ou misturas de bactérias (coinoculação), podem causar diferentes efeitos no desenvolvimento das plantas. Nesse sentido, sugere-se que a inoculação isolada ou a coinoculação de RPCPs possa contribuir para o adequado desenvolvimento de plantas de milho, reduzindo o uso ou aumentando o aproveitamento de fertilizantes minerais, tornando a produção agrícola economicamente mais viável e ecologicamente mais sustentável.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da inoculação e coinoculação de rizóbios, simbiontes em leguminosas, e *Azospirillum brasilense* na promoção de crescimento em cultivo de milho a campo com e sem irrigação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados a campo na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no município de Eldorado do Sul-RS (30°05'S; 51°38'W), sendo conduzidos em

áreas experimentais diferentes, sob condições de sequeiro na safra 2015/2016 e sob irrigação na safra 2016/2017. A área experimental situa-se na região fisiográfica da Depressão Central do Rio Grande do Sul, em uma altitude média de 46 metros acima do nível do mar. O clima é subtropical de verão úmido e quente, do tipo Cfa, conforme a classificação de Koppen (IPAGRO, 1979).

A precipitação pluvial média anual em Eldorado do Sul é de 1440 mm e a temperatura média mensal varia entre 14 e 25°C, entre os meses mais frios e mais quentes (Bergamaschi et al., 2003). O solo da área experimental pertence à unidade de mapeamento São Jerônimo, caracterizado como Argissolo Vermelho Distrófico típico (Streck et al., 2008). As características químicas do solo (0 – 20 cm) antes da instalação dos experimentos foram: Argila: 27%; pH (H<sub>2</sub>O): 5,6; P: 20 mg dm<sup>-3</sup>; K: 165 mg dm<sup>-3</sup>; Ca: 4,3 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg: 1,9 cmolc dm<sup>-3</sup>; MO: 21 g.kg<sup>-1</sup> e CTC: 6,62 cmolc dm<sup>-3</sup>.

O delineamento experimental utilizado nos dois estudos foi o de blocos ao acaso, com 12 tratamentos e 4 repetições, totalizando 48 parcelas experimentais, que foram constituídas de cinco linhas de semeadura com seis metros de comprimento, espaçadas em 0,5 m, com área total de 15 m<sup>2</sup> por parcela. Os tratamentos foram constituídos por inoculação e coinoculação de RPCPs, e doses de nitrogênio de 150 kg ha<sup>-1</sup> ou 300 kg ha<sup>-1</sup> (equivalente a 50% e 100%, respectivamente, da dose de nitrogênio pelo Manual de Adubação e Calagem para o RS e SC). As rizobactérias utilizadas foram os rizóbios UFRGS Vp16 (*Burkholderia* sp.), isolado de trevo branco (*Trifolium repens*) por Alves (2005), e UFRGS Lc348 (*Mesorhizobium* sp.), isolado de plantas de cornichão (*Lotus corniculatus*) por Frizzo (2007), ambos pertencente à Coleção de Culturas de Rizóbios da UFRGS, e *A. brasilense* (produto comercial contendo as estirpes AbV5 e AbV6).

Os 12 tratamentos testados foram: sem inoculação + adubação com 50% N; sem inoculação + adubação com 100% N; inoculação com UFRGS Vp16 + adubação com 50% N; inoculação com UFRGS Vp16 + adubação com 100% N; inoculação com UFRGS Lc348 + adubação com 50% N; inoculação com UFRGS Lc348 + adubação com 100% N; inoculação com *A. brasilense* + adubação com 50% N; inoculação com *A. brasilense* + adubação com 100% N;

coinoculação com UFRGS Vp16 + *A. brasilense* + adubação com 50% N;  
coinoculação com UFRGS Vp16 + *A. brasilense* + adubação com 100% N;  
coinoculação com UFRGS Lc348 + *A. brasilense* + adubação com 50% N;  
coinoculação com UFRGS Lc348 + *A. brasilense* + adubação com 100% N.

A adubação na semeadura foi de 300 kg $ha^{-1}$  de NPK da fórmula 5-20-20, e a adubação de cobertura foi de 150 kg $ha^{-1}$  (dose de 50%) e 300 kg $ha^{-1}$  (dose de 100%) de nitrogênio, parceladas em duas aplicações, nos estádios V3 (75 kg  $ha^{-1}$  e 150 kg  $ha^{-1}$ ) e V8 (75 kg  $ha^{-1}$  e 150 kg  $ha^{-1}$ ). O híbrido de milho utilizado foi o Morgan 30A77PW, caracterizado como superprecoce e com finalidade para produção de grãos. Os tratos culturais foram realizados segundo as recomendações técnicas da cultura do milho.

Para a produção do inóculo bacteriano, cada rizóbio foi inoculado em meio de cultura Levedura Manitol (LM) a pH 6,8 (Vincent, 1970) em erlenmeyer com capacidade de 1000 mL mantidos em incubador com agitação orbital de 120 rpm por seis dias a 28°C. Para os tratamentos inoculados, foi utilizado a dose de 200 ml  $ha^{-1}$  de inóculo bacteriano (contendo cerca de  $10^9$  UFC  $ml^{-1}$ ) e 100 ml  $ha^{-1}$  do produto comercial (contendo as estirpes AbV5 e Abv6 de *A. brasilense*). A inoculação das bactérias foi realizada por pulverização na linha de plantio sobre as folhas e solo quando as plantas estavam nos estádios de desenvolvimento V2-V3.

Foi considerada como área útil da parcela as três linhas centrais com cinco metros de comprimento, onde foram avaliados: (i) o número de espigas, calculado pela média da parcela multiplicado pelo número de plantas  $ha^{-1}$ ; (ii) a produção média de grãos por espiga, sendo a razão entre o rendimento de grãos e o número de espiga na área; (iii) o peso de 100 grãos, calculado pela média de 100 grãos contados em 4 repetições; e (iv) o rendimento de grãos após a trilha, sendo a massa de grãos de cada parcela pesada e corrigida para a umidade de 13%.

Os dados de componentes de rendimento e de rendimento de grãos foram submetidos à análise de variância pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, com auxílio do programa R, utilizando-se o pacote ExpDes (Ferreira, 2013). Determinou-se também a eficiência relativa ( $E_f$ ) da inoculação

dos rizóbios e *A. brasilense* no rendimento de grãos, utilizando-se o método de Brockwell et al. (1966), modificado. O valor foi obtido pelo quociente entre a diferença entre o tratamento inoculado e/ou coinoculado ( $TRAT_{inoculado}$ ) e o controle com 50% da dose de nitrogênio ( $TRAT_{N/2}$ ), e a diferença entre o controle com 100% da dose de nitrogênio ( $TRAT_N$ ) e o controle com 50% da dose de nitrogênio ( $TRAT_{N/2}$ ), de acordo com a equação:

$$Ef(\%) = \left( \frac{TRAT_{inoculado} - TRAT_{N/2}}{TRAT_N - TRAT_{N/2}} \right) \times 100$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os componentes de rendimento número de espigas, peso de grãos por espiga e peso de 100 grãos não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, independentemente do manejo (sequeiro ou irrigado), como pode se observar na Tabela 1. Entretanto, vale ressaltar que todos os valores para as variáveis de componentes de rendimento encontrados na safra 2016/2017, em ambiente irrigado, apresentaram incremento em relação à safra 2015/2016.

Estes resultados mostram que a falta de água (déficit hídrico) no milho pode causar vários efeitos negativos sobre a planta, afetando diretamente os componentes da produção de grãos, com consequência direta no rendimento da lavoura (Kunz et al., 2007). A ausência de efeitos significativos nos componentes de rendimento em plantas de milho também foi observada em estudo com diferentes níveis de adubação nitrogenada em cobertura (0, 80, 105, 130, 155 e 180 kg ha<sup>-1</sup>) e inoculação com *A. brasilense* (Repke et al. 2013).

**Tabela 1.** Componentes de rendimento (número de espigas, produção de grãos por espiga e peso de 100 grãos) de plantas de milho inoculadas com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense* nas safras 2015/2016 sob manejo sequeiro e safra 2016/2017 sob manejo irrigado.

Tratamentos	Safr 2015/2016 Sequeiro			Safr 2016/2017 Irrigado		
	nº espigas (ha)	Peso de grãos/espiga (g)	Peso de 100 grãos (g)	nº espigas (ha)	Peso de grãos/espiga (g)	Peso de 100 grãos (g)
Controle N/2 (150 kg)	66844 <sup>ns</sup>	130,60 <sup>ns</sup>	29,75 <sup>ns</sup>	72596,15 <sup>ns</sup>	229,84 <sup>ns</sup>	34,11 <sup>ns</sup>
Controle N (300kg)	71153	142,78	31,94	75135,14	304,49	35,47
N/2 + Vp16	68575	152,64	31,35	72813,24	260,74	35,81
N + Vp16	65357	144,70	31,78	76381,91	273,91	36,30
N/2 + Lc348	73847	136,16	30,18	76076,56	253,80	34,88
N + Lc348	71189	128,46	31,17	73696,41	258,87	36,12
N/2 + Azosp.	64712	146,64	31,85	74796,75	233,06	35,16
N + Azosp.	70984	141,44	31,01	71746,78	262,84	35,88
N/2+ Azosp.+Vp16	68366	148,25	33,24	75638,05	250,48	35,91
N + Azosp.+Vp16	65908	146,04	33,13	73460,25	249,30	35,56
N/2+Azosp.+Lc348	69711	144,95	31,64	73165,19	254,23	35,66
N + Azosp.+Lc348	63814	150,43	33,20	75392,67	245,33	36,09

Médias seguidas de ns (não significativo) não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a p. 0,05 de probabilidade. N/2= dose de 50% de nitrogênio; N= dose de 100% de nitrogênio.

Em contrapartida, há diversos relatos na literatura de estudos demonstrando a eficiência de diversas RPCPs em beneficiar o desenvolvimento de plantas de milho, nas características morfológicas (sistema radicular, altura de plantas, número de folhas) e nos componentes de rendimento, como o de Mazzuchelli et al. (2014) , com a inoculação *Bacillus subtilis* e *A. brasilense*, o de Dartora et al. (2013), com a coinoculação de *A. brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*, e o de Marks et al. (2015) em estudo sobre a inoculação de *A. brasilense* e *Rhizobium tropici*.

Em relação à produtividade de grãos, observou-se diferença entre os tratamentos para milho em manejo de sequeiro e milho irrigado (Tabela 2). No cultivo em condição de sequeiro 2015/2016, a produção do milho variou de 8,7 t ha<sup>-1</sup> (tratamento controle com 50% da dose de nitrogênio) a 10,4 t ha<sup>-1</sup> (tratamento inoculado com UFRGS-Vp16+50% de nitrogênio). Já no cultivo de milho irrigado 2016/2017, a produção variou entre 11,5 t ha<sup>-1</sup> no tratamento controle 50% da dose de nitrogênio, e 13,8 t ha<sup>-1</sup>, no tratamento inoculado com rizóbio UFRGS Vp16 +100% da dose de nitrogênio.

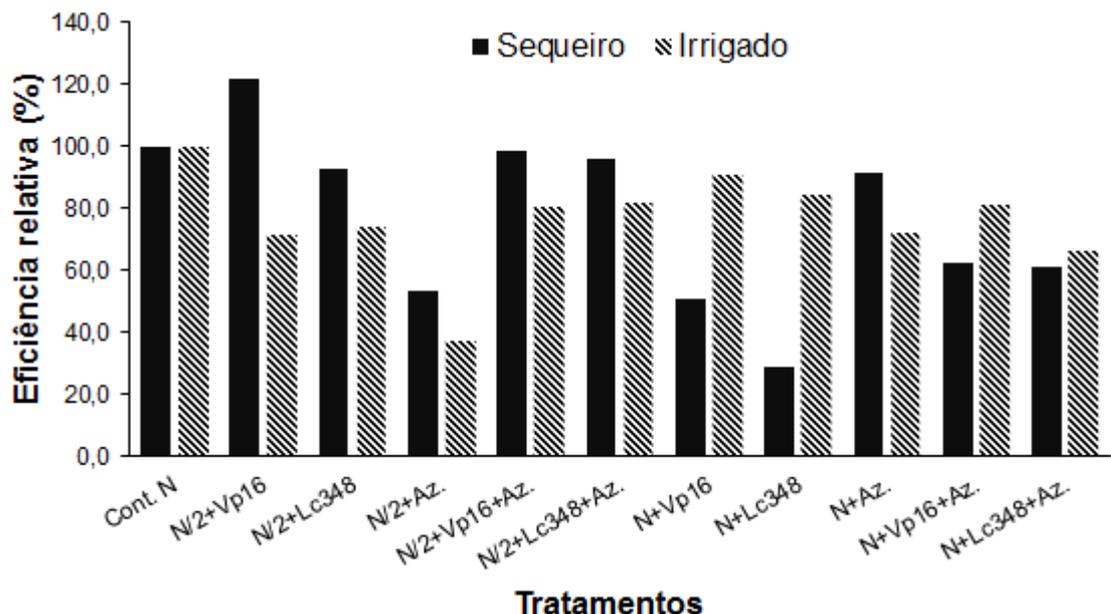
**Tabela 2.** Rendimento de grãos de milho (kg ha<sup>-1</sup>) em função de inoculação e coinoculação rizóbios e *Azospirillum* nas safras 2015/2016 sob manejo sequeiro e safra 2016/2017 sob manejo irrigado.

Tratamento	Safra 2015/2016	Safra 2016/2017
	Sequeiro	Irrigado
	Rendimento de grãos kg ha <sup>-1</sup>	Rendimento de grãos kg ha <sup>-1</sup>
Controle N/2 (150 kg)	8730,15 b	11568,60 b
Controle N (300kg)	10159,26 a	14108,15 a
N/2 + Vp16	10467,48 a	13384,66 a
N + Vp16	9457,42 b	13878,35 a
N/2 + Lc348	10055,16 a	13451,19 a
N + Lc348	9145,22 b	13720,12 a
N/2 + <i>Azosp.</i>	9489,10 b	12507,58 b
N + <i>Azosp.</i>	10039,77 a	13404,83 a
N/2+ <i>Azosp.</i> +Vp16	10135,50 a	13609,50 a
N + <i>Azosp.</i> +Vp16	9625,25 b	13628,57 a
N/2+ <i>Azosp.</i> +Lc348	10104,71 a	13643,63 a
N + <i>Azosp.</i> +Lc348	9599,91 b	13247,88 a

Médias seguidas de mesma letra entre linhas não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a p. 0,05 de probabilidade. N/2= dose de 50% de nitrogênio; N= dose de 100% de nitrogênio.

Resultados semelhantes foram observados em estudo com milho com diferentes inoculantes (à base de *A. brasilense* e *Rhizobium* sp.) e níveis de adubação nitrogenada (0, 50, 100 e 150 kg ha<sup>-1</sup>) onde foram observados efeitos significativos apenas no rendimento de grãos (Spolaor et al., 2016). Muitos trabalhos apresentam, quando realizada a inoculação, ganhos em rendimento ou a possibilidade da redução de adubações nitrogenadas aplicadas, sem haver perdas em produtividade (Hungria et al., 2010; Corassa et al., 2013; Müller et al., 2016; Mumbach et al., 2017). A ausência de ganhos com a inoculação de RPCPs também é relatada na literatura (Repke et al., 2013; Vogt et al., 2014; Sangoi et al., 2015).

Os resultados de rendimentos de grãos desse trabalho mostram o potencial positivo da inoculação das RPCPs em plantas de milho, sendo este fato evidenciado nos índices de eficiência relativa (Figura 1). Pode-se observar que todos os tratamentos inoculados e coinoculados aumentaram o rendimento de grãos, com destaque para o tratamento UFRGS Vp16+50% de nitrogênio, que apresentou eficiência superior a 121% no manejo sequeiro, e tratamento UFRGS Vp16+100% de nitrogênio com eficiência relativa de quase 91%, no manejo irrigado.



**Figura 1.** Eficiência relativa da inoculação e coinoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense* no rendimento de grãos de plantas de milho.

Considerando o potencial do uso de RPCPs tanto em promover o crescimento quanto aumentar o rendimento de plantas, a inconsistência dos resultados é comum na literatura (Oliveira et al., 2015). Relatos indicam que o sucesso da inoculação está diretamente relacionado com a interação entre genótipos de plantas e estirpes de bactérias, bem como outros fatores relacionados com o ambiente (Hungria, 2011; Braccini et al., 2012; Hahn, 2013; Osório Filho, 2014; Pandolfo et al., 2015).

No cultivo em condições de sequeiro, foi possível verificar que a inoculação dos rizóbios e/ou coinoculação de rizóbios com *A. brasilense* associadas com a dose de 100% de nitrogênio não proporcionaram nenhum incremento da produtividade, quando comparadas ao controle sem inoculação com a dose de 100% de nitrogênio. De acordo com Carvalho et al. (2014), a eficiência das RPCPs é rapidamente reduzida ou até mesmo inibida na presença de alta concentração de nitrogênio no solo.

Há evidências de que a quantidade de nitrogênio no solo pode regular a colonização de RPCPs, prejudicando a interação bactéria-planta (Spolaor et al., 2016). Isso significa que os resultados positivos de inoculação podem ser dependentes de baixas concentrações de nitrogênio mineral nos solos, ou de baixas e médias doses de nitrogênio aplicados em cobertura (Roesch et al., 2006; Veresoglou & Menexes 2010; Lana et al., 2012; Skonieski, 2015). Este fato pode explicar os resultados encontrados no presente trabalho sob manejo de sequeiro, onde nos tratamentos que foram inoculados ou coinoculados com rizóbios e *A. brasilense* +50% da dose de nitrogênio o rendimento de grãos foi equivalente ao tratamento controle com 100% da dose de nitrogênio recomendada para cultura do milho.

Na relação “custo-benefício” nas interações associativas entre plantas e microrganismos, somente ocorre incrementos produtivos dessas interações se os benefícios que os microrganismos proporcionarem for maior que o custo metabólico da planta para a manutenção de elevadas populações microbianas (Partida-Martínez & Heil, 2011). Dentro deste contexto, a inoculação com RPCPs pode atuar como dreno energético em uma lavoura que apresente condições de plena nutrição para a planta (Spolaor et al., 2016),

pois as RPCPs são heterotróficas, ou seja, demandam energia da planta para se manterem ativos e sob populações elevadas (Hartmann et al. 2009). Assim, uma inoculação ou coinoculação eficiente pode ter efeito neutro ou até mesmo negativo sobre o desenvolvimento vegetal, fato este observado neste trabalho no manejo sequeiro.

Outro ponto a se destacar no presente trabalho é o aumento no rendimento de grãos sob manejo irrigado (Tabela 2). A irrigação favoreceu os resultados da safra 2016/2017, pois o milho é uma planta que tem potencial mais elástico de rendimento de grãos quando há disponibilidade hídrica (Andrade & Albuquerque, 2017). Em experimentos no Rio Grande do Sul o uso da irrigação proporcionou aumentos de produtividade entre 20 e 70% (Bergonci et al., 2001; Bergamaschi et al., 2006).

Os resultados apresentados neste trabalho mostram que o uso da inoculação ou coinoculação de RPCPs permite a redução pela metade da quantidade de fertilizante nitrogenado, sem haver perdas na produção de grãos de milho, seja em manejo de sequeiro ou irrigado. Outros estudos já apresentaram resultados similares (Mumbach et al., 2017; Lana et al., 2012; Hungria et al., 2010), o que pode representar uma importante economia na agricultura. Assim, a inoculação de RPCPs em lavouras de milho é uma importante estratégia na busca por um sistema agrícola economicamente mais viável e ecologicamente mais sustentável.

## CONCLUSÕES

A inoculação de rizóbios ou a coinoculação como *A. brasilense* não altera o número de espigas, produção de grãos por espiga e peso de 100 grãos de plantas de milho inoculadas.

A inoculação de rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, isolada ou combinada com *A. brasilense* mantém a produção de grãos de milho com 50% da dose nitrogenada recomendada, em condições de sequeiro e sob irrigação.

#### **4. CAPÍTULO III – Inoculação e coinoculação de rizobactérias promotoras de crescimento em plantas de arroz irrigado**

##### **INTRODUÇÃO**

O Brasil destaca-se como um dos países mais importantes quanto à produção e consumo de arroz do mundo, produzindo mais de 12 milhões toneladas na safra 2016/17, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior produtor nacional com 69% da produção (CONAB, 2017).

Embora o agronegócio do arroz desfrute de condições favoráveis ao seu desenvolvimento, existem fatores de produção que podem restringir esta expansão, dentre eles a disponibilidade de nitrogênio (Fageria & Stone, 2003). Para a obtenção de altas produtividades de grãos, uma prática comum nos países produtores é a utilização de doses elevadas de fertilizantes nitrogenados nas lavouras de arroz (Guimarães & Baldani, 2013). O nitrogênio é um fertilizante de valor elevado e a sua utilização de forma exagerada pode causar danos ao meio ambiente (Reeves et al., 2002).

Uma alternativa promissora visando à redução do uso de fertilizantes e o aumento da produtividade das lavouras de arroz é a utilização de microrganismos benéficos associados às plantas, as rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) (Ferreira et al., 2003; Guimarães et al., 2003; Xie et al., 2003). As RPCPs são bactérias que vivem na rizosfera, promovendo o crescimento das plantas de forma direta ou indireta (Moreira et al., 2010; Sarkar & Reinhold-Hurek, 2014), seja pela capacidade de produzir hormônios vegetais (auxinas, giberelinas e citocininas) (Okon & Vanderleyden, 1997), solubilizar nutrientes (Rodriguez & Fraga, 1999; Singh et al., 2007; Shukla et al., 2008), ou reduzir os danos causados por fitopatógenos (Renwick et al., 1991).

Vários estudos vêm sendo realizados, demonstrando a colonização de RPCPs em raízes de plantas de arroz e seu efeito na promoção de crescimento desta poácea (Kuss, 2006; Osorio Filho, 2009; Guimarães et al., 2010; Garcia, 2016; Gerlach, 2017). Entretanto, as respostas de cultivares são diferentes à inoculação, demonstrando que a habilidade na promoção de crescimento das RPCPs pode ser específica para cada cultivar.

Embora os resultados da utilização de RPCPs sejam promissores, ainda há uma carência de trabalhos que mostrem a interação dos rizóbios, simbioses em leguminosas, com diferentes genótipos de arroz utilizados no Estado do Rio Grande do Sul. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da inoculação e coinoculação de rizóbios e *Azospirillum brasilense* na promoção de crescimento de plantas de arroz cultivadas a campo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos em campo na Estação Experimental do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), no município de Cachoeirinha, região arrozeira da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, em um Gleissolo Háptico Distrófico típico, de textura franco-argilosa (Streck et al., 2008) nas safras 2014/15 e 2015/16. Antes da instalação do experimento (safra 2014/15), a área estava em pousio há dois anos.

O experimento foi composto por sete tratamentos (Tabela 3), sendo dois tratamentos controle, sem inoculação: um que recebeu 81 kg ha<sup>-1</sup> de N e outro com 135 kg ha<sup>-1</sup> N (equivalente a 60% e 100%, respectivamente, da dose de nitrogênio recomendada pelo Manual de Adubação e Calagem para RS e SC). Os outros cinco tratamentos receberam apenas 60% da dose de N (81 kg ha<sup>-1</sup>) e foram inoculados com os rizóbios UFRGS Vp16 (*Burkholderia* sp.), isolado de trevo branco (*Trifolium repens*) por Alves (2005), e UFRGS Lc348 (*Mesorhizobium* sp.), isolado de plantas de cornichão (*Lotus corniculatus*) por Frizzo (2007), e com o produto comercial contendo as estirpes de *Azospirillum brasilense* AbV5 e AbV6. A inoculação foi isolada e em conjunto (coinoculação). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições.

**Tabela 3.** Identificação e descrição dos tratamentos.

<b>Tratamento</b>	<b>Adubação</b>	<b>Estirpes</b>
Controle 60%N	81 kg ha <sup>-1</sup> N	-
Controle 100%N	135 kg ha <sup>-1</sup> N	-
60%N + Vp16	81 kg ha <sup>-1</sup> N	UFRGS Vp16
60%N + Lc348	81 kg ha <sup>-1</sup> N	UFRGS Lc348
60%N + Azosp.	81 kg ha <sup>-1</sup> N	<i>Azospirillum</i>
60%N+Az.+Vp16	81 kg ha <sup>-1</sup> N	<i>Azospirillum</i> + UFRGS Vp16
60%N+Azp.+Lc348	81 kg ha <sup>-1</sup> N	<i>Azospirillum</i> + UFRGS Lc348

A cultivar utilizada foi a IRGA 424, que apresenta alto potencial produtivo e boa resposta à adubação. Em ambas as safras, a densidade de semeadura utilizada foi de 120 kg ha<sup>-1</sup>, com espaçamento entre linhas de 0,17m. As sementes foram tratadas com fungicida e inseticida, e a adubação no plantio foi de 400 kg ha<sup>-1</sup> de NPK na fórmula 04-17-27 para expectativa de resposta “Muito Alta” à adubação (REUNIÃO, 2014).

A adubação nitrogenada em cobertura com uréia (46% de N) foi realizada aplicando-se 2/3 da dose no estágio V3-V4, segundo escala de Counce et al. (2000), e o restante entre os estádios V7 e V8, antes da diferenciação da panícula. O início da irrigação ocorreu entre os estádios V3 e V4, com a manutenção de uma lâmina de água com cerca de 7,5 cm de altura durante todo o ciclo de cultivo. Entre os estádios R7/R8, quando a maior parte dos grãos se apresentava no estado pastoso a farináceo, realizou-se a supressão da irrigação. O controle de doenças, pragas e plantas daninhas foi realizado conforme as recomendações técnicas para o arroz irrigado no Sul do Brasil (REUNIÃO, 2012).

Para a produção do inóculo bacteriano, cada rizóbio foi inoculado em meio de cultura Levedura Manitol (LM) a pH 6,8 (Vincent, 1970) em erlenmeyer com capacidade de 1000 ml mantidos em incubador com agitação orbital de 120 rpm por seis dias a 28°C. A inoculação das bactérias nas plantas dos tratamentos inoculados foi realizada por aspersão quando as plantas estavam nos estádios V3-V4, antes do início da irrigação. Foi utilizada a dose de 200 ml ha<sup>-1</sup> de inóculo bacteriano de cada rizóbio (contendo cerca de 10<sup>8</sup> UFC ml<sup>-1</sup>) e 100 ml ha<sup>-1</sup> do produto comercial (contendo as estirpes AbV5 e Abv6 de *A. brasilense*).

As variáveis analisadas foram rendimento de grãos e componentes do rendimento (número de panículas por metro quadrado, número de grãos por panícula e peso do grão).

Os resultados de componentes de rendimento, quando necessário, foram transformados com o uso da função  $\sqrt{(x+1)}$ . Após este procedimento, os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste de Scott-Knott (p. 0,15), utilizando-se o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000). Determinou-se também a eficiência relativa (Ef) da inoculação dos rizóbios e *A. brasilense* no rendimento de grãos, utilizando-se o método de Brockwell et al. (1966), modificado. O valor foi obtido pelo quociente entre a diferença entre o tratamento inoculado e/ou coinoculado ( $TRAT_{inoculado}$ ) e o controle com 60% da dose de nitrogênio ( $TRAT_{N/2}$ ), e a diferença entre o controle com 100% da dose de nitrogênio ( $TRAT_N$ ) e o controle com 50% da dose de nitrogênio ( $TRAT_{N/2}$ ), de acordo com a equação:

$$Ef(\%) = \left( \frac{TRAT_{inoculado} - TRAT_{N/2}}{TRAT_N - TRAT_{N/2}} \right) \times 100$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação e a coinoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas de arroz promoveram aumento significativos no número de panículas por metro quadrado em relação aos tratamentos controle nas safras 2014/2015 e 2015/2016 (Tabela 2). Na safra 2014/15, quando as plantas foram inoculadas isoladamente com as bactérias UFRGS Vp16 o número de panículas por metro quadrado foi de 701,12, com *A. brasilense* foi de 708,37 e quando coinoculadas com UFRGS Lc348 mais *A. brasilense* foi de 744,61.

No primeiro ano do experimento (safra 2014/2015), houve um incremento de até 11% no número de panículas por metro quadrado em relação ao tratamento controle com a dose de 100% de nitrogênio. Resultados diferentes foram relatados por Franco et al. (2011), Grohs et al. (2012) e Rosso et al. (2016), em estudos com doses de nitrogênio superiores a 150kg ha<sup>-1</sup> e

sem a técnica de inoculação, onde estes autores encontraram resultados inferiores ao do presente estudo.

Já na safra 2015/16, quando a área foi inoculada pelo segundo ano consecutivo, todos os tratamentos inoculados e coinoculados apresentaram números de panículas por metro quadrado e número de grãos por panícula semelhantes ao tratamento com a dose de 100% de nitrogênio (Tabela 4).

**Tabela 4.** Componentes de rendimento (número de panículas/m<sup>2</sup>, número de grãos/panícula e peso de 1000 grãos) de plantas de arroz irrigado inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, safras 2014/15 e 2015/16.

Tratamentos	Número de panículas/m <sup>2</sup>		Número de grãos/panícula		Peso de 1000 grãos (g)	
	Safra 2014/15	Safra 2015/16	Safra 2014/15	Safra 2015/16	Safra 2014/15	Safra 2015/16
	Controle 60%N	665,9 b	673,0 b	58,9 ns	54,2 b	29,8 ns
Controle 100%N	662,8 b	811,7 a	57,7	67,2 a	27,9	28,9
60%N + Vp16	701,1 a	780,0 a	57,5	69,2 a	28,6	29,4
60%N + Lc348	655,5 b	741,0 a	55,4	70,2 a	30,1	31,2
60%N + Azosp.	708,3 a	740,7 a	55,8	63,2 a	29,4	28,4
60%N+Az.+Vp16	641,0 b	800,0 a	62,4	78,0 a	29,1	29,6
60%N+Azp.+Lc348	744,6 a	753,0 a	52,1	77,5 a	28,6	29,8

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,15, Scott-Knott). ns: não significativo.

A inoculação de RPCPs pode estimular o desenvolvimento de plantas de arroz durante todo o ciclo de cultivo, interferindo diretamente nos componentes de rendimento (Chi et al., 2005, Singh et al., 2007; Osorio Filho, 2009; Hahn, 2013). O número de panículas por unidade de área é definido na fase vegetativa da planta (Freitas et al., 2007). Assim, pode-se afirmar que a inoculação ou coinoculação com UFRGS VP16, UFRGS Lc348 e *A. brasilense*, favoreceram a fase vegetativa da cultura, aumentando o número de panículas com apenas 60% da dose de nitrogênio recomendada (Tabela 4).

Os resultados deste estudo reforçam a existência de interações benéficas das RPCPs com plantas de arroz, provavelmente pela elevação dos níveis de fito hormônios nos tecidos. Estes fitohormônios atuam em todas as fases de desenvolvimento das plantas, e cada isolado de bactéria pode estimular diferentemente os níveis de produção de hormônios vegetais

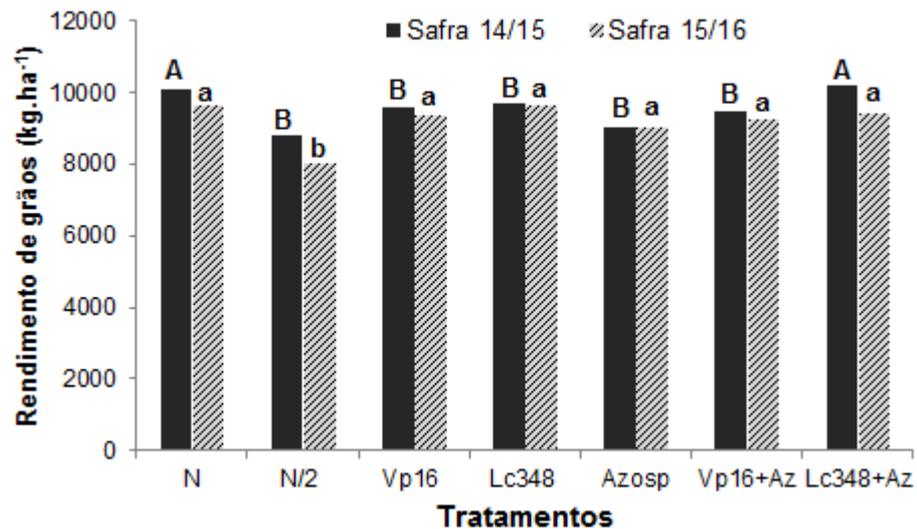
específicos, que são refletidos significativamente na fisiologia do crescimento das plantas de arroz (Chi et al., 2005).

A produção de grãos de arroz é resultante de quatro componentes: número de panículas por unidade de área, número de grãos por panícula, percentagem de grãos cheios e peso do grão (CIAT, 1986). Matsushima (1995) avaliou a contribuição de cada componente para a produção de grãos e verificou que a variação do peso do grão é muito pequena, na ordem de 3%, independentemente da cultivar ou manejo agrícola adotado. Assim, para uma alta produção de grãos devem-se priorizar manejos que favoreçam aos outros três componentes. Este fato foi evidenciado neste estudo nas duas safras avaliadas.

Os resultados de análise de variância mostraram que a inoculação e a coinoculação com RPCPs utilizando apenas 60% da dose de nitrogênio recomendada para o arroz ( $81 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ ), proporciona o mesmo rendimento de grãos de arroz quando comparado ao tratamento com 100% da dose ( $135 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ ) sem inoculação (Figura 2).

Na safra 2014/2015 a coinoculação do rizóbio UFRGS Lc348 mais *A. brasilense* produziu 9.986,13 kg de arroz por hectare, semelhante à produção do tratamento controle ( $10119,68 \text{ kg ha}^{-1}$ ) que recebeu 100% da dose de N recomendada. A coinoculação de rizóbios e *A. brasilense* mostrou melhores resultados do que quando as RPCPs foram inoculadas isoladamente nas plantas, comprovando o efeito sinérgico da técnica, ou seja, o resultado da junção das bactérias foi mais eficaz em aumentar o rendimento de grãos do que a inoculação isolada.

A inoculação e coinoculação também favoreceram a produção de grãos da safra 2015/16. Todos os tratamentos que foram inoculados ou coinoculados produziram grãos de forma equivalente ao tratamento controle com a dose de 100% de nitrogênio (Figura 2). O bom desempenho que as RPCPs apresentaram no rendimento de grãos de arroz, mostra que a inoculação padrão ou a coinoculação é uma alternativa para reduzir em até 40% a quantidade de fertilizantes nitrogenados em lavouras orizícolas.



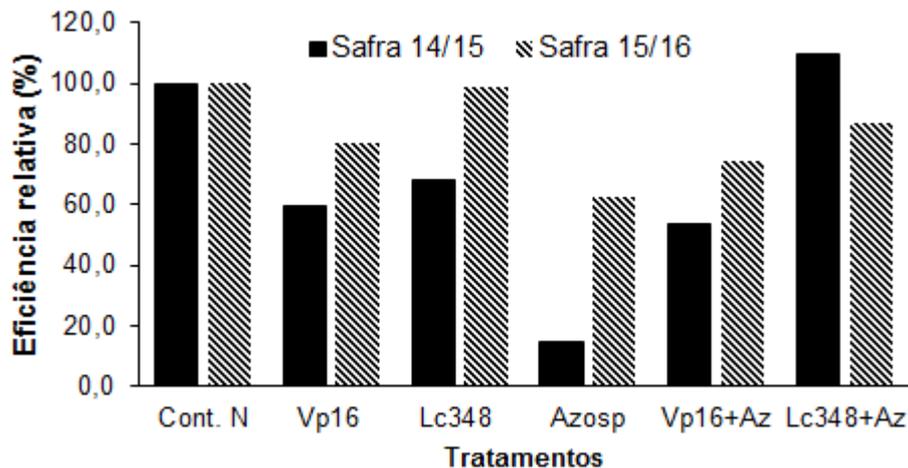
**Figura 2.** Rendimento de grãos de plantas de arroz inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, safras 2014/15 e 2015/16. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,15, Scott-Knott). Letras maiúsculas safra 2014/15, letras minúsculas safra 2015/16.

A safra 2015/2016 no estado do Rio Grande do Sul, maior produtor nacional, teve queda de 14,7% na produtividade média, em função do clima desfavorável no período de colheita (CONAB, 2017). Porém, mesmo em condições desfavoráveis para o cultivo no estado, as plantas inoculadas com RPCPs aumentaram a produção de grãos com apenas 60% da dose de nitrogênio recomendada.

Considerando-se a produtividade média do estado do Rio Grande do Sul de 7.914 kg ha<sup>-1</sup> (IRGA, 2016), os resultados apresentados neste trabalho representam um aumento rendimento de grãos de 23% e 18%, nas safras 2014/15 e 2015/16, respectivamente. Os benefícios da inoculação no rendimento de grãos de cultivares de arroz também já foram observados por diversos autores (Ferreira, 2003; Baldani & Baldani, 2005; Kuss, 2006; Guimarães et al., 2010; Ferreira, 2011; Bortolini, 2015).

Os efeitos positivos da inoculação e coinoculação no cultivo de arroz também podem ser visualizados pelos índices de eficiência relativa (Figura 3). Na safra 2014/15, o maior índice de eficiência relativa foi verificado no tratamento coinoculado com UFRGS Lc348+A. *brasiliense*+60% de nitrogênio (109,7%). Já na safra 2015/16, os índices de eficiência relativa variaram de

62,4% (tratamento *A. brasilense*+60% de nitrogênio) a 98,9% (tratamento UFRGS Lc348+60% de nitrogênio).



**Figura 3.** Eficiência relativa da inoculação e coinoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense* no rendimento de grãos de plantas de arroz.

O presente trabalho mostra que a utilização de RPCPs em lavouras de arroz pode ser uma alternativa economicamente viável para os orizicultores, pois com o elevado preço dos fertilizantes nitrogenados, a economia de 54 kg ha<sup>-1</sup> com esses insumos significaria menor custo de produção, aumento na renda agrícola e menor potencial de impacto ambiental. Assim, o melhor entendimento das interações entre as cultivares de arroz e as RPCPs é de fundamental importância para que, no futuro, se possa utilizar as técnicas de inoculação e coinoculação nas lavouras, buscando dessa forma, a sustentabilidade do sistema de produção.

## CONCLUSÕES

A inoculação e coinoculação dos rizóbios UFRGS-VP16 e UFRGS Lc348, e de *Azospirillum brasilense* aumentam o número de panículas por metro quadrado em relação ao tratamento sem inoculação com 60% da dose nitrogenada.

A coinoculação do rizóbio UFRGS Lc348+*Azospirillum*, associada com 60% da dose de nitrogênio, mantém a produtividade de grãos da cultivar

de arroz IRGA 424 quando comparada a dose de 100% de nitrogênio recomendada.

Em área previamente inoculada (safra 2015/2016), a inoculação com RPCPs teve efeito positivo no rendimento de grãos em plantas de arroz com 60% da dose de nitrogênio recomendada.

## **5. CAPÍTULO IV – Potencial de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas no cultivo de trigo**

### **INTRODUÇÃO**

O trigo (*Triticum aestivum* L.) está entre as espécies vegetais que tem mais destaque na economia mundial (Joshi et al. 2007), por ser considerada alimento básico devido a produção diversificada de derivados dos seus grãos (Scheuer et al., 2011). No Brasil, a produção da última safra foi de 6,7 milhões de toneladas, sendo a região Sul responsável por 89% desta produção (CONAB, 2017).

Como a maioria das espécies vegetais produtoras de grãos, um bom rendimento provém da associação de diversos fatores, desde a utilização de cultivares adaptadas às condições locais, boa fertilidade do solo, manejo rigoroso de pragas e doenças (Mumbach et al., 2017). O manejo adequado da adubação nitrogenada é um dos fatores essenciais para a obtenção de bons rendimentos na lavoura, principalmente devido ao fato deste nutriente ser absorvido em grandes quantidades (Zagonel et al., 2002).

O nitrogênio é o nutriente que mais interfere na produção (Rodrigues et al., 2014), pois participa da composição de compostos orgânicos, atuando no perfilhamento, produção de biomassa e de sementes (Taiz & Zeiger, 2013; Vogel & Fey, 2016), influenciando diretamente a produtividade e qualidade dos grãos (Cazetta et al., 2008). O uso do fertilizante industrial é a principal fonte disponível de nitrogênio às plantas de trigo e, no intuito de se obter altas produtividades, são aplicadas doses elevadas desse nutriente. Entretanto, apenas 50% do que é aplicado é aproveitado pelas plantas, o restante se perde devido à lixiviação, volatilização da amônia, desnitrificação, imobilização microbiana e erosão (Binoto, 2013; Galindo, 2015). Esse uso em excesso pode

resultar em danos ao meio ambiente como acidificação do solo e eutrofização das águas, bem como elevar os custos da produção (Binoto, 2013).

Na perspectiva de uma produção agrícola economicamente mais viável e ambientalmente mais sustentável, o interesse na utilização de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) tem aumentado. Estas RPCPs são capazes de colonizar a superfície das raízes e tecidos internos das plantas (Hungria, 2011), promovendo seu crescimento através produção de hormônios vegetais (Cavallet et al. 2000), solubilização de fosfato, maior desenvolvimento radicular (Kazi et al., 2016), aumento nos teores de clorofila (Hungria 2011), além de alterações na atividade fotossintética das plantas (Gordillo-Delgado et al., 2016).

Os resultados obtidos através das pesquisas pela inoculação com RPCPs em cultivo de trigo tem sido promissores (Binoto et al., 2013; Alves et al., 2017; Mumbach et al., 2017; Pereira et al., 2017), e demonstram que esta prática pode suprir, pelo menos em parte, a necessidade de nitrogênio das plantas, possibilitando a redução das doses nitrogenadas. Contudo, a viabilidade agrônômica dessa prática nos solos do Rio Grande do Sul ainda precisa ser melhor avaliada, sendo necessária mais informações científicas que abordem a interação das RPCPs (principalmente rizóbios, simbiontes em leguminosas) com as cultivares utilizadas nas lavouras do estado.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial da inoculação e coinoculação de duas estirpes de rizóbios e inoculante comercial contendo estirpes de bactérias *Azospirillum brasilense*, no desenvolvimento e rendimento de grãos das cultivares de trigo TBIO Sossego e BRS Parrudo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido a campo na safra agrícola 2016 na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS), no município de Eldorado do Sul-RS (30°05'S; 51°38'W). A EEA/UFRGS está situada na região fisiográfica da Depressão Central do Rio Grande do Sul (RS), em uma altitude média de 46 metros acima do nível do

mar. Em relação à produção de trigo a região é classificada como Região Homogênea de Adaptação de Cultivares 2. O clima é subtropical de verão úmido quente, do tipo Cfa, conforme a classificação de Koppen (IPAGRO, 1979).

A precipitação pluvial média anual em Eldorado do Sul é de 1440 mm e a temperatura média mensal varia entre 10 e 24°C, entre os meses mais frios e mais quentes (Bergamaschi et al., 2003). O solo da área experimental pertence à unidade de mapeamento São Jerônimo, caracterizado como Argissolo Vermelho Distrófico típico (Streck et al., 2008). As características químicas do solo (0 – 20 cm) antes da instalação dos experimentos foram: Argila: 27%; pH (H<sub>2</sub>O): 5,6; P: 20 mg dm<sup>-3</sup>; K: 165 mg dm<sup>-3</sup>; Ca: 4,3 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg: 1,9 cmolc dm<sup>-3</sup>; MO: 21 g kg<sup>-1</sup> e CTC: 6,62 cmolc dm<sup>-3</sup>.

A semeadura foi realizada em junho de 2016, sendo cada parcela constituída de 10 linhas de semeadura com três metros de comprimento, espaçadas em 0,18m. As cultivares utilizadas foram a BRS Parrudo e a TBIO Sossego, ambas de ciclo médio (130-135 dias), porte médio e recomendadas para o cultivo na região de realização do estudo.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com doze tratamentos e quatro repetições, totalizando 48 unidades experimentais. A adubação na semeadura foi de 150 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 150 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, e a adubação de cobertura, que diferencia os tratamentos, foi de 50 kg ha<sup>-1</sup> (dose de 50%) e 100 kg ha<sup>-1</sup> (dose de 100%) de nitrogênio (recomendada pelo Manual de Adubação e Calagem para RS e SC), parceladas em duas aplicações, nos estádios V2 (20 kg ha<sup>-1</sup> e 40 kg ha<sup>-1</sup>) e V6 (30 kg ha<sup>-1</sup> e 60 kg ha<sup>-1</sup>). Os tratos culturais foram realizados segundo as indicações técnicas da cultura do trigo (Reunião, 2016).

As rizobactérias utilizadas foram os rizóbios UFRGS Vp16 (*Burkholderia* sp.), isolado de trevo branco (*Trifolium repens*) por Alves (2005), e UFRGS Lc348 (*Mesorhizobium* sp.), isolado de plantas de cornichão (*Lotus corniculatus*) por Frizzo (2007), ambos pertencente à Coleção de Culturas de Rizóbios da UFRGS, e *A. brasilense* (produto comercial contendo as estirpes AbV5 e AbV6).

Os 12 tratamentos testados foram: sem inoculação + adubação com 50% N; sem inoculação + adubação com 100% N; inoculação com UFRGS Vp16 + adubação com 50% N; inoculação com UFRGS Vp16 + adubação com 100% N; inoculação com UFRGS Lc348 + adubação com 50% N; inoculação com UFRGS Lc348 + adubação com 100% N; inoculação com *A. brasilense* + adubação com 50% N; inoculação com *A. brasilense* + adubação com 100% N; coinoculação com UFRGS Vp16 + *A. brasilense* + adubação com 50% N; coinoculação com UFRGS Vp16 + *A. brasilense* + adubação com 100% N; coinoculação com UFRGS Lc348 + *A. brasilense* + adubação com 50% N; coinoculação com UFRGS Lc348 + *A. brasilense* + adubação com 100% N.

Para a produção do inóculo bacteriano, os rizóbios (UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348) foram inoculados, isoladamente, em erlenmeyers com capacidade de 1000 ml contendo meio de cultura Levedura Manitol Líquido (LM) a pH 6,8 (Vincent, 1970). Os erlenmeyers foram colocados em incubador com agitação orbital de 120 rpm por seis dias a 28°C. A inoculação das bactérias foi realizada por pulverização quando as plantas estavam nos estádios V2-V3. Para os tratamentos inoculados, foi utilizado a dose de 200 ml ha<sup>-1</sup> de inóculo bacteriano (contendo cerca de 10<sup>9</sup> UFC ml<sup>-1</sup>) e 100 ml ha<sup>-1</sup> do produto comercial (contendo as estirpes AbV5 e Abv6 de *A. brasilense*).

Foi considerado como área útil da parcela as oito linhas centrais com dois metros de comprimento (2,88 m<sup>2</sup>), onde foram avaliados: (i) matéria seca da parte aérea no estágio de florescimento; (ii) número de espigas por metro quadrado; (iii) peso hectolítrico (iv) peso de 1000 grãos e (v) rendimento de grãos.

Os dados de componentes de rendimento e de rendimento de grãos serão submetidos à análise de variância pelo teste de Scott-Knott a 10% de significância, com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000). Determinou-se também a eficiência relativa (Ef) da inoculação dos rizóbios e *A. brasilense* no rendimento de grãos, utilizando-se o método de Brockwell et al. (1966), modificado. O valor foi obtido pelo quociente entre a diferença entre o tratamento inoculado e/ou coinoculado (TRAT<sub>inoculado</sub>) e o controle com 50% da dose de nitrogênio (TRAT<sub>N/2</sub>), e a diferença entre o

controle com 100% da dose de nitrogênio (TRAT<sub>N</sub>) e o controle com 50% da dose de nitrogênio (TRAT<sub>N/2</sub>), de acordo com a equação:

$$Ef(\%) = \left( \frac{TRAT_{inoculado} - TRAT_{N/2}}{TRAT_N - TRAT_{N/2}} \right) \times 100$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na avaliação dos componentes de rendimento de plantas de trigo, inoculadas e coinoculadas com rizóbios e *Azospirillum*, encontram-se na Tabela 5. Para cultivar TBIO Sossego houve diferença significativa apenas para o número de espigas por metro quadrado, variando de 458,33 (tratamento N/2+ Vp16) a 598,61 (tratamento N+*Azospirillum*). Já para a cultivar BRS Parrudo, o número de espigas por metro quadrado e o peso de mil grãos apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. O número de espigas por metro quadrado variou de 359,72 (tratamento N+Vp16) até 454,17 (tratamento N+Lc348). Para o componente peso de 1000 grãos os tratamentos inoculados ou coinoculados apresentaram peso equivalente ao tratamento controle com a dose de 100% de nitrogênio, com destaque para os tratamentos que receberam metade da dose nitrogenada e foi aplicada a técnica de coinoculação: N/2+ *Azosp.*+Vp16 (36,99 g) e N/2+ *Azosp.*+Lc348 (36,98 g).

Pode-se observar que, independentemente da cultivar, a redução de 50% da dose de nitrogênio reduziu o número de espigas por metro quadrado na maioria dos tratamentos que receberam a inoculação ou coinoculação de rizóbios e *Azospirillum*. Resultado semelhante foi relatado em estudo trabalhando com formas de aplicação de nitrogênio e *Azospirillum* (Mumbach et al., 2017). Por outro lado, diferentemente dos resultados deste trabalho, também foi relatado que a redução da dose de nitrogênio, quando associada à inoculação, não resultou em redução do número de espigas de trigo (Rosário et al., 2013).

**Tabela 5.** Matéria seca, componentes de rendimento (número de espigas por metro quadrado e peso de 1000 grãos) e peso hectolítrico de plantas de trigo inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento de plantas.

Tratamento	<i>Cultivar TBIO Sossego</i>			
	MSPA (kg ha <sup>-1</sup> )	Espiga/m <sup>2</sup>	PH (kg hl <sup>-1</sup> )	Peso mil grãos (g)
Controle N/2 (150 kg)	4262,59 ns	575,00 a	76,33 ns	34,33 ns
Controle N (300kg)	5333,33	558,33 a	76,18	35,58
N/2 + Vp16	4891,85	458,33 b	77,00	35,10
N + Vp16	4987,78	575,00 a	76,24	35,91
N/2 + Lc348	5142,22	506,94 b	76,35	35,56
N + Lc348	5574,81	598,61 a	76,54	36,34
N/2 + Azosp.	4739,63	515,28 b	76,99	34,28
N + Azosp.	5392,22	597,22 a	76,62	36,43
N/2+ Azosp.+Vp16	4888,52	469,44 b	77,12	35,24
N + Azosp.+Vp16	4784,44	513,89 b	76,48	36,25
N/2+Azosp.+Lc348	4811,85	491,67 b	76,94	36,95
N + Azosp.+Lc348	5261,48	580,56 a	76,53	36,80

Tratamento	<i>Cultivar BRS Parrudo</i>			
	MSPA (kg ha <sup>-1</sup> )	Espiga/m <sup>2</sup>	PH (kg hl <sup>-1</sup> )	Peso mil grãos (g)
Controle N/2 (150 kg)	4658,52 ns	397,22 a	77,85 ns	34,67 b
Controle N (300kg)	5613,33	425,56 a	76,69	35,85 a
N/2 + Vp16	4494,07	384,72 b	77,60	36,86 a
N + Vp16	5651,48	359,72 b	76,97	36,78 a
N/2 + Lc348	4794,07	427,78 a	77,87	35,94 a
N + Lc348	4760,00	454,17 a	76,57	36,09 a
N/2 + Azosp.	4968,15	390,28 b	77,16	34,78 b
N + Azosp.	5250,74	448,61 a	77,51	36,67 a
N/2+ Azosp.+Vp16	5118,52	361,50 b	77,37	36,99 a
N + Azosp.+Vp16	5414,44	426,39 a	76,84	36,42 a
N/2+ Azosp.+Lc348	4710,37	387,50 b	77,28	36,98 a
N + Azosp.+Lc348	5298,89	429,17 a	76,00	36,85 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,10, Scott-Knott). ns: não significativo.

Uma importante característica a ser observada é que o número de espigas por metro quadrado é variável entre as cultivares (Wobeto, 1994; Valério et al., 2008), e este componente se relaciona indiretamente com o rendimento de grãos, pois estas espigas podem abortar durante o ciclo de desenvolvimento, ou seja, um maior número de espigas por metro quadrado pode não se traduzir, diretamente, em um aumento no rendimento de grãos (Valério et al., 2009), fato que pode ser observado neste trabalho.

Em relação ao peso de 1000 grãos da cultivar BRS Parrudo, pode-se observar na Tabela 5 que os tratamentos inoculados ou coinoculados

associados com 50% da dose de nitrogênio ( $50 \text{ kg ha}^{-1}$ ) apresentaram peso de grãos equivalentes ao tratamento controle com 100% da adubação nitrogenada (com exceção do tratamento N/2 + *Azospirillum*). Estes resultados sugerem que as RPCPs inoculadas proporcionaram às plantas alocar fotoassimilados em para posterior enchimento de grãos. Os benefícios da inoculação de RPCPs no peso de grãos de trigo já foram observados por Didonet et al. (2000), Corassa et al. (2013), Pereira et al. (2017), em que avaliaram doses de nitrogênio e *Azospirillum*.

O trigo tem uma elevada capacidade de compensar a falta ou excesso de um componente do rendimento através da modificação dos demais componentes (Holen et al., 2001; Benin et al., 2003). Tal modificação, dependendo do cultivar, do ambiente, do manejo e da interação entre esses fatores, pode ser suficiente para a maximização do potencial produtivo (Valério et al., 2009). Analisando os resultados de componentes de rendimento do presente trabalho, pode-se observar este efeito compensatório das cultivares, pois, quando os tratamentos apresentaram menor número de espiga por metro quadrado, houve um aumento no peso dos grãos.

Em relação ao rendimento de grãos, houve diferença significativa entre os tratamentos para as duas cultivares avaliadas (Tabela 6). Para a cultivar TBIO Sossego, a produção de trigo variou de  $3,2 \text{ t ha}^{-1}$  (tratamento controle com 50% da dose de nitrogênio) a  $4,3 \text{ t ha}^{-1}$  (tratamento inoculado com UFRGS-Lc348+100% de nitrogênio). Na cultivar BRS Parrudo, a produção variou entre  $2,6 \text{ t ha}^{-1}$  no tratamento controle 50% da dose de nitrogênio, e  $3,6 \text{ t ha}^{-1}$ , no tratamento coinoculado com rizóbio UFRGS Lc348+*Azospirillum*+100% da dose de nitrogênio.

Com exceção do tratamento N/2 + *Azospirillum* para a cultivar TBIO Sossego, e dos tratamentos N/2 + *Azospirillum* e N/2+ *Azospirillum* +Lc348 para a cultivar BRS Parrudo, o uso da metade da dose de nitrogênio ( $50 \text{ kg ha}^{-1}$ ) associado à inoculação ou coinoculação das RPCPs, apresentaram produtividade similares às parcelas que receberam somente 100% de nitrogênio. Resultados positivos com a redução da dose de nitrogênio e a manutenção da produtividade também foram encontrados em trabalhos de

Rosário (2013), que ao avaliarem plantas de trigo associado à bactéria *A. brasilense* e redução da adubação nitrogenada não obtiveram diferença significativa.

**Tabela 6.** Rendimento de grãos de trigo em função de inoculação e coinoculação com rizóbios e *Azospirillum brasilense*.

Tratamento	Rendimento de grãos (kg ha <sup>-1</sup> )	
	TBIO Sossego	BRS Parrudo
Controle N/2 (150 kg)	3229,91 b	2695,78 b
Controle N (300kg)	4240,51 a	3524,51 a
N/2 + Vp16	3801,53 a	3047,81 a
N + Vp16	4116,07 a	3526,42 a
N/2 + Lc348	3934,42 a	3045,89 a
N + Lc348	4324,75 a	3535,99 a
N/2 + <i>Azosp.</i>	3488,13 b	2816,16 b
N + <i>Azosp.</i>	4317,09 a	3292,86 a
N/2+ <i>Azosp.</i> +Vp16	3965,05 a	3107,15 a
N + <i>Azosp.</i> +Vp16	4083,53 a	3518,76 a
N/2+ <i>Azosp.</i> +Lc348	4051,20 a	2800,84 b
N + <i>Azosp.</i> +Lc348	4240,51 a	3601,08 a

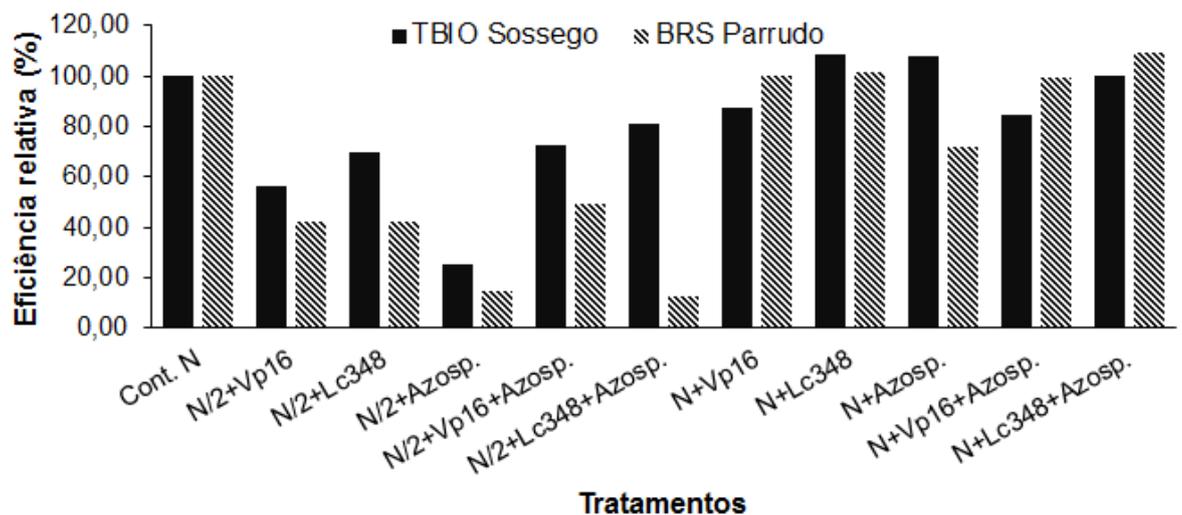
Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,10, Scott-Knott). ns: não significativo.

A utilização de rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *Azospirillum* não aumentaram o rendimento de grãos, quando comparado ao tratamento controle com 100% da dose de nitrogênio, mas houve uma manutenção da produtividade em plantas inoculadas, possibilitando uma redução de 50% do fertilizante nitrogenado. Resultados semelhantes foram observados em outros estudos, quando os autores trabalharam com diferentes níveis de adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum* (Hungria, 2011; Rosário, 2013; Pereira et al., 2017; Mumbach et al., 2017).

Entretanto, relatos sobre a inconsistência dos resultados sobre a eficiência das RPCPs tanto em promover o crescimento quanto aumentar o rendimento de plantas são comuns na literatura (Oliveira et al., 2015). Estudos indicam que o sucesso da inoculação está diretamente relacionado com a interação entre genótipos de plantas e isolados bacterianos, bem como, outros fatores relacionados como o ambiente (Hungria, 2011; Braccini et al., 2012, Pandolfo et al., 2015).

Nas condições experimentais deste estudo, a cultivar TBIO Sossego foi mais produtiva do que a cultivar BRS Parrudo. Considerando o rendimento médio (10 anos) das lavouras de trigo do estado do Rio Grande do Sul ( $2.089 \text{ kg ha}^{-1}$ ) (CONAB, 2017), a produtividade da cultivar TBIO Sossego foi de até 52% superior à média, já a cultivar BRS Parrudo foi até 41% superior.

Os benefícios da inoculação e coinoculação em plantas de trigo também podem ser visualizados através do índice de eficiência relativa (Figura 4). Pode-se observar que todos os tratamentos inoculados e coinoculados aumentaram o rendimento de grãos, variando de 25,5% (tratamento *A. brasilense*+50% de nitrogênio) a 108,3% (tratamento UFRGS Lc348+100% de nitrogênio) para cultivar TBIO Sossego, e de 12,6% (tratamento UFRGS Lc348+*Az. brasilense*+50% de nitrogênio) a 109,2% (tratamento UFRGS Lc348+*Az. brasilense*+50% de nitrogênio) para cultivar BRS Parrudo.



**Figura 4.** Eficiência relativa da inoculação e coinoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense* no rendimento de grãos de plantas de trigo.

Devido aos elevados custos praticados em relação aos fertilizantes nitrogenados, o uso de fontes alternativas em substituição parcial da adubação nitrogenada pode se tornar economicamente viável (Hungria et al., 2010), sendo capaz de promover a manutenção de produtividades das lavouras de trigo. Assim, os resultados obtidos neste trabalho mostram que o uso da inoculação ou coinoculação de RPCPs permite a redução pela metade da

quantidade de fertilizante nitrogenado, sem haver perdas na produção de grãos, representando uma importante economia na agricultura brasileira.

## **CONCLUSÕES**

A inoculação e coinoculação dos rizóbios UFRGS-VP16 e UFRGS Lc348, e de *A. brasilense* interfere somente no componente de rendimento número de espigas por metro quadrado para cultivar TBIO Sossego, e para cultivar BRS Parrudo a inoculação e coinoculação altera o número de espigas por metro quadrado e peso de mil grãos.

A inoculação de rizóbios, isoladamente ou em coinoculação com *A. brasilense* mantém a produção de grãos de trigo com apenas 50% da dose nitrogenada.

## **6. CAPÍTULO V – Cinética de absorção de nitrogênio em plantas de milho inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento**

### **INTRODUÇÃO**

O alto rendimento de lavouras de milho depende de diversos fatores, entre eles as características intrínsecas à planta, condições climáticas da região de cultivo, e também o manejo adotado na condução da lavoura (Argenta et al., 2001). Plantas de milho são altamente exigentes em fertilizantes químicos, principalmente os nitrogenados, e o uso de elevadas doses deste nutriente é uma das principais ferramentas no manejo da lavoura para obter altas produtividades.

O nitrogênio é o nutriente mineral requerido em maior quantidade pelas poáceas e também o que mais onera o custo de produção (Silva et al., 2005). Os fertilizantes nitrogenados exercem uma importante função nos processos bioquímicos da planta, sendo fundamental para o estabelecimento e a duração da área foliar, bem como para a formação das espigas, interferindo diretamente no rendimento de grãos (Rambo et al., 2007; Taiz & Zeiger, 2013).

Atualmente, além da necessidade de reduzir gastos com fertilizantes nitrogenados, também há uma crescente preocupação com a poluição do meio ambiente, proveniente do manejo inadequado destes fertilizantes, especialmente dos recursos hídricos e da atmosfera (Lara Cabezas et al., 2000). Isso tem estimulado o setor agrícola a buscar sistemas de manejo que aumentem a eficiência da adubação com maior aproveitamento do nitrogênio pelo milho, proporcionando maior produtividade e lucratividade ao produtor, considerando o custo/benefício e a sustentabilidade do ambiente (Amado et al., 2002).

Dessa forma, a utilização de tecnologias no manejo da lavoura que possam atender a demanda nitrogenada do milho, com baixo custo de produção e impacto ambiental, torna-se cada vez mais importante para aumentar a renda do produtor, preservar o ambiente e garantir segurança alimentar para a população mundial (Sangoi et al., 2015). Entre as alternativas na busca de sistemas sustentáveis de produção de milho, visando redução na aplicação e no aumento na eficiência na utilização do N, destaca-se o uso rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs).

As RPCPs podem estimular o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo os principais: capacidade de fixação biológica de nitrogênio (Huergo et al., 2008); produção de hormônios vegetais como auxinas, citocininas, giberilinas, etileno e uma variedade de outras moléculas (Perrig et al., 2007); solubilização de fosfato (Rodriguez et al., 2004), e como agente de controle biológico de patógenos (Correa et al., 2008). No geral, as RPCPs melhoram o desenvolvimento vegetal por uma combinação de todos esses mecanismos (Dobbelaere et al., 2003).

Os efeitos hormonais são considerados os de maior contribuição das RPCPs, pois promovem alterações no sistema radicular das plantas inoculadas com formação pelos radiculares, raízes secundárias e alongamento das raízes (Bashan & De-Bashan 2010). Essas modificações no sistema radicular proporcionam aumento na superfície de absorção e na capacidade de exploração de água e nutrientes do solo, tornando a planta menos sensível aos estresses ambientais e proporcionando o desenvolvimento de plantas mais vigorosas e produtivas (Bashan & Holguin 1997; Bashan et al., 2004).

A eficiência da absorção dos nutrientes pode ter contribuição importante na nutrição das plantas cultivadas em condições de baixa disponibilidade do nutriente no solo (Sanes et al., 2013), sendo influenciada pelos parâmetros cinéticos que compreendem a velocidade máxima ( $V_{max}$ ), que representa o máximo de transporte possível de um nutriente, a constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ), que representa a concentração de determinado nutriente necessária para que a absorção atinja metade de sua  $V_{max}$ .

Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar a hipótese que a inoculação e/ou coinoculação de RPCPs em milho altera os parâmetros cinéticos relacionados com a absorção de nitrogênio em alta e baixa disponibilidade deste nutriente.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em vasos plásticos com capacidade para 1,5 litros, contendo solução nutritiva Sarruge (1975). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com 12 tratamentos e 4 repetições, totalizando 48 parcelas experimentais. O híbrido de milho utilizado foi o Morgan 30A77PW, caracterizado como superprecoce e com finalidade para produção de grãos.

Os tratamentos foram constituídos por inoculação e coinoculação de RPCPs, e doses de nitrogênio correspondente a 75 kg ha<sup>-1</sup> (equivalente a 50%) e 150 kg ha<sup>-1</sup> (equivalente a 100%), conforme recomendação do Manual de Adubação e Calagem para RS e SC. As rizobactérias utilizadas foram os rizóbios UFRGS Vp16 (*Burkholderia* sp.), isolado de trevo branco (*Trifolium repens*) por Alves (2005), e UFRGS Lc348 (*Mesorhizobium* sp.), isolado de plantas de cornichão (*Lotus corniculatus*) por Frizzo (2007), ambos pertencente à Coleção de Culturas de Rizóbios da UFRGS, e *A. brasilense* (produto comercial contendo as estirpes AbV5 e AbV6).

Os 12 tratamentos testados foram: sem inoculação + adubação com 50% N; sem inoculação + adubação com 100% N; inoculação com UFRGS Vp16 + adubação com 50% N; inoculação com UFRGS Vp16 + adubação com 100% N; inoculação com UFRGS Lc348 + adubação com 50% N; inoculação com UFRGS Lc348 + adubação com 100% N; inoculação com *A. brasilense* + adubação com 50% N; inoculação com *A. brasilense* + adubação com 100% N; coinoculação com UFRGS Vp16 + *A. brasilense* + adubação com 50% N; coinoculação com UFRGS Vp16 + *A. brasilense* + adubação com 100% N; coinoculação com UFRGS Lc348 + *A. brasilense* + adubação com 50% N; coinoculação com UFRGS Lc348 + *A. brasilense* + adubação com 100% N.

Para a produção do inóculo bacteriano, os rizóbios (UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348) foram inoculados, isoladamente, em erlenmeyers com capacidade de 1000 mL contendo meio de cultura Levedura Manitol Líquido (LM) a pH 6,8 (Vincent, 1970). Os erlenmeyers foram colocados em incubador com agitação orbital de 120 rpm por seis dias a 28°C. Para os tratamentos inoculados, foi utilizado a dose correspondente de 200 ml ha<sup>-1</sup> de inóculo bacteriano (contendo cerca de 10<sup>9</sup> UFC ml<sup>-1</sup>) e 100 ml ha<sup>-1</sup> do produto comercial (contendo as estirpes AbV5 e Abv6 de *A. brasilense*).

As sementes de milho foram desinfestadas com álcool (70%), hipoclorito de sódio (0,3%) e lavadas com água destilada esterilizada. Após, foram colocadas para germinar em bandejas de plástico, contendo areia lavada e autoclavada. Após a semeadura, as bandejas foram irrigadas com água destilada autoclavada e após germinação, as plântulas foram inoculadas com o caldo bacteriano por pulverização.

Oito dias após a germinação, as plântulas foram selecionadas quanto a uniformidade e transplantadas para vasos plásticos, contendo solução nutritiva Sarruge (1975) esterilizada a 1/4 de sua força iônica, com 1 mmol L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (tratamentos com 100% da dose de nitrogênio) e 0,5 mmol L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (tratamentos com 50% da dose de nitrogênio). As trocas da solução nutritiva foram realizadas a cada 48 horas, sendo que a segunda troca a solução tinha ½ da força iônica, na terceira troca a solução foi integral, e na quarta troca a solução nutritiva foi substituída por água destilada autoclavada, a fim de promover uma “fome de N” e aumentar a capacidade de absorção das plantas. A solução foi continuamente arejada e o pH foi ajustado diariamente para 6,0 ± 0,2.

Após esse período de privação de N, aos 17 dias após a germinação, a solução nutritiva e doses de nitrogênio foram repostas. Foram realizadas coletas de 10 mL de solução nutritiva por vaso, sem reposição, a cada 60 minutos durante 10 horas.

As plantas foram coletadas ao final do experimento, e separadas em parte aérea e raízes para determinação da massa seca. As raízes e a parte aérea foram secas em estufa ajustada para 65 °C até atingirem peso

constante. O  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  foram determinados pelo método colorimétrico, que utiliza solução de Azul de Salicílico (Silva, 2009).

Os parâmetros cinéticos de absorção ( $V_{\text{max}}$  e  $K_m$ ) de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  foram determinados a partir da diminuição da concentração destes íons na solução nutritiva em função do tempo, conforme descrito por Claassen e Barber (1974). O ajuste das curvas de depleção e os cálculos dos parâmetros cinéticos foram realizados empregando-se o software CINETICWIN 1.0 (UFV).

Os dados foram submetidos à análise de variância com auxílio do pacote estatístico SAS<sup>TM</sup> (Statistical Analysis System - SAS 8.0), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 1% e 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos parâmetros cinéticos de absorção de  $\text{NH}_4^+$  variaram conforme a concentração da dose nitrogenada e técnicas de inoculação e coinoculação (Tabela 7 e 8). Em condições de cultivo com  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de nitrogênio, o  $V_{\text{max}}$  variou de  $0,026$  a  $0,077 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , destacando os tratamentos inoculados UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e a coinoculação com UFRGS Lc348+A. *brasiliense*. A constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ) também foi influenciada pela inoculação das RPCPs, sendo o tratamento UFRGS Lc348 o que apresentou maior valor ( $0,193 \mu\text{mol L}^{-1}$ ).

**Tabela 7.** Parâmetros cinéticos de absorção ( $K_m$  e  $V_{\text{max}}$ ) de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em plantas de milho submetidas à dose de  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de nitrogênio.

Tratamentos	$V_{\text{max}}$ ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	$K_m$ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )
Controle N/2	0,026 c	0,065 b
N/2+Vp16	0,077 a	0,150 a b
N/2+Lc348	0,063 a b	0,193 a
N/2 +Azosp.	0,048 b c	0,163 a b
N/2 +Vp16+ Azosp.	0,044 b c	0,083 a b
N/2 +Lc348+ Azosp.	0,050 a b c	0,165 a b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,01, Tukey).

Em condições de alta disponibilidade de nitrogênio (cultivo com  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de nitrogênio) também houve diferença entre os tratamentos para os parâmetros  $V_{\text{max}}$  e  $K_m$  na absorção de  $\text{NH}_4^+$  (Tabela 8). A inoculação com

UFRGS Lc348, e a coinoculação de UFRGS Lc348+A.*brasilense* e UFRGS Vp16+A.*brasilense* favorecem a  $V_{max}$ . O  $K_m$ , que mede a afinidade entre íon e transportador, foi significativamente modificado pela inoculação isolada e combinada do rizóbio UFRGS Lc348 e *A. brasilense*.

**Tabela 8.** Parâmetros cinéticos de absorção ( $K_m$  e  $V_{max}$ ) de amônio ( $NH_4^+$ ) em plantas de milho submetidas à dose de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de nitrogênio.

Tratamentos	$V_{max}$ ( $\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ )	$K_m$ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )
<b>Controle N</b>	0,064 c	0,195 b
<b>N+Vp16</b>	0,076 b c	0,163 b
<b>N+Lc348</b>	0,102 a b	0,320 a
<b>N+Azosp.</b>	0,064 c	0,168 b
<b>N+Vp16+ Azosp.</b>	0,084 a b c	0,183 b
<b>N+Lc348+ Azosp.</b>	0,111 a	0,258 a b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,01, Tukey). ns: não significativo.

Os valores para os parâmetros cinéticos de absorção de  $NO_3^-$  também variaram significativamente para os tratamentos inoculados e coinoculados, independentemente das doses de 50% e 100% de nitrogênio (Tabelas 9 e 10). Com 50% nitrogênio, os maiores valores para  $V_{max}$  foram de 0,029 (tratamentos UFRGS Vp16+A. *brasilense* e *A. brasilense*) e 0,022  $\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$  (tratamento UFRGS Lc348+A. *brasilense*). Para o parâmetro  $K_m$  o menor valor foi observado no tratamento UFRGS Lc348 (0,068  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ).

**Tabela 9.** Parâmetros cinéticos de absorção ( $K_m$  e  $V_{max}$ ) de nitrato ( $NO_3^-$ ) em plantas de milho submetidas à dose de  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de nitrogênio.

Tratamentos	$V_{max}$ ( $\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ )	$K_m$ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )
<b>Controle N/2</b>	0,018 b	0,090 a b
<b>N/2+Vp16</b>	0,020 b	0,088 a b
<b>N/2+Lc348</b>	0,016 b	0,068 b
<b>N/2 + Azosp.</b>	0,029 a	0,130 a
<b>N/2 +Vp16+ Azosp.</b>	0,029 a	0,103 a b
<b>N/2 +Lc348+ Azosp.</b>	0,022 a b	0,098 a b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,05, Tukey).

Os parâmetros cinéticos de absorção de nitrato em cultivo com doses de 100% de nitrogênio foram modificados pela inoculação ou

coinoculação. Para  $V_{\max}$  e  $K_m$ , o tratamento que apresentou maiores valores foi o UFRGS Lc348+A. *brasiliense*,  $0,034 \mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$  e  $0,100 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

**Tabela 10.** Parâmetros cinéticos de absorção ( $K_m$  e  $V_{\max}$ ) de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) em plantas de milho submetidas à dose de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de nitrogênio.

Tratamentos	$V_{\max}$ ( $\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ )		$K_m$ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	
<b>Controle N</b>	0,021	b	0,078	a b c
<b>N+Vp16</b>	0,030	a b	0,083	a b
<b>N+Lc348</b>	0,024	a b	0,058	c
<b>N+Azosp.</b>	0,029	a b	0,070	b c
<b>N+Vp16+ Azosp.</b>	0,030	a b	0,080	a b c
<b>N+Lc348+ Azosp.</b>	0,034	a	0,100	a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (p. 0,05, Tukey).

A absorção de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) foi maior que a absorção de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) tanto em condições de 50% e 100% de nitrogênio. Este fato se deve a rápida inibição da absorção de  $\text{NO}_3^-$  pelas raízes quando estas são expostas ao  $\text{NH}_4^+$ . A rapidez deste efeito conduz à suposição de que a inibição resulta do efeito direto do amônio na membrana plasmática (Maças, 2008). De modo geral, a forma de nitrogênio amoniacal é preferencialmente absorvida no início do desenvolvimento das plantas, sendo a forma nítrica mais absorvida à medida que vai avançando o ciclo vegetativo (Brown et al. 1983; Blackmer, 2000).

A aquisição de amônio e nitrato em plantas ocorre por meio de transportadores de membrana plasmática, que podem ser classificados quanto à afinidade por seu substrato, sendo que os transportadores de alta afinidade (High Affinity Transporter System ou HATS) são responsáveis pela absorção de nitrogênio em concentrações menores que  $1 \text{ mmol}$ , enquanto que os transportadores de baixa afinidade (Low Affinity Transporter System ou LATS) realizam o transporte de forma não saturável para concentrações de nitrogênio acima de  $1 \text{ mmol}$  (Von Wirén et al., 1997; Glass et al., 2002).

Nas condições do estudo, provavelmente a absorção de nitrogênio foi mediada em sua maioria por carregadores de alta afinidade (HATS), que atuam sob baixas concentrações externas de nitrogênio. Entretanto, no

mecanismo de transporte de nitrogênio pode ocorrer uma regulação rápida nos transportadores dependendo das concentrações do nutriente no meio, levando a alterações da afinidade da proteína (Serezino, 2015). Assim, uma maior ou menor expressão de transportadores pode estar diretamente envolvida na eficiência de absorção de nitrogênio pelas plantas (Sperandio, 2011).

Os resultados apresentados do presente estudo mostram que a inoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348 e a coinoculação com *A. brasilense* modificam a cinética de absorção em plantas de milho, interferindo diretamente na eficiência de absorção do nitrogênio. Plantas inoculadas apresentaram valores maiores de  $V_{max}$ , indicando que houve uma absorção máxima de íons de  $NH_4^+$  e  $NO_3^-$ , provavelmente devido à saturação de todos os sítios dos carregadores nas raízes de milho (Taiz & Zeiger, 2013). Pode-se sugerir que a inoculação proporciona uma alta velocidade de absorção e favorece os sítios de absorção de nitrogênio, em relação a plantas não inoculadas.

É fato que a absorção de um nutriente é dependente da concentração do íon em torno da raiz (Costa et al., 2000). Pode-se observar que, mesmo em concentrações diferentes (50% ou 100% de nitrogênio), a inoculação alterou positivamente o  $V_{max}$ . De acordo com Furtini Neto (1994), plantas que apresentam valores intermediários de  $V_{max}$  podem ser consideradas com um mecanismo mais apurado na absorção do nutriente, uma vez que pode ocorrer a regulação no seu aproveitamento, evitando excesso de absorção que poderia ocasionar uma eventual toxidez.

Outro parâmetro cinético de absorção avaliado neste trabalho foi a constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ), que indica a concentração do íon em que ocorre metade de  $V_{max}$  e está relacionado à capacidade da planta em absorver o nutriente em baixas concentrações (Costa et al., 2000). Os valores de  $K_m$  encontrados neste trabalho foram bem variáveis, sugerindo que outros mecanismos possam estar envolvidos na eficiência de absorção de nitrogênio por plantas inoculadas com RPCPS.

Pode-se afirmar que a inoculação com rizóbios aumentou a absorção de nitrogênio nas condições do presente trabalho, tornando as

plantas mais eficientes na absorção de nitrogênio. Uma planta pode ser considerada eficiente no processo de absorção de um determinado nutriente, quando apresenta alta taxa inicial de absorção do nutriente, e quando extrai o máximo possível deste elemento, atingindo baixas concentrações do mesmo no ambiente de cultivo (Nielsen & Barber, 1978; Marschner, 2012).

Para interpretação dos parâmetros cinéticos, é importante a avaliação conjunta dos resultados. A partir da concentração do nutriente em solução, a cada tempo de coleta, foram construídas curvas de depleção para os tratamentos estudados (plantas inoculadas sob adubações de 0,5 mmol L<sup>-1</sup> e 1 mmol L<sup>-1</sup> de nitrogênio). As equações de regressão podem ser observadas na Tabela 11.

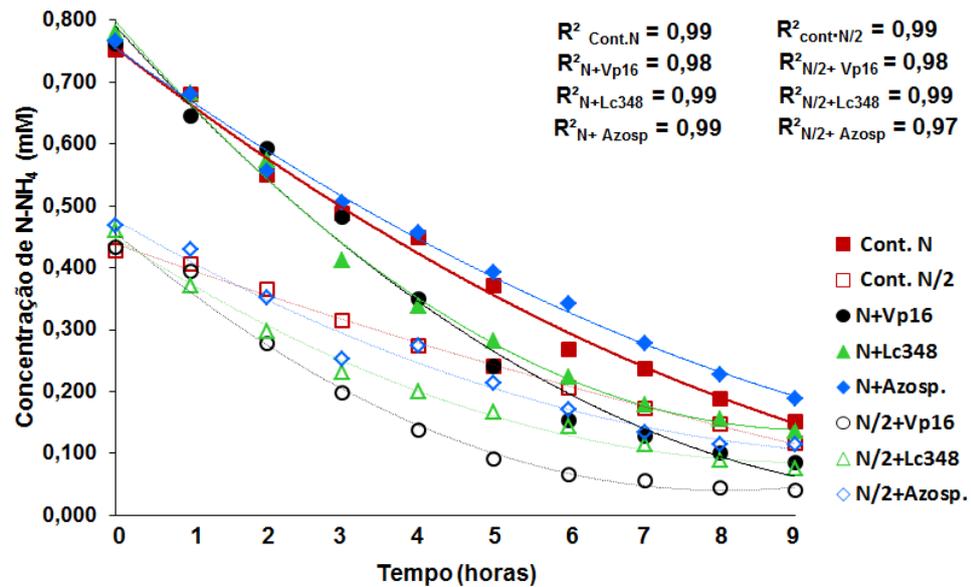
**Tabela 11.** Equações de regressão dos tratamentos inoculados e coinoculados com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *Azospirillum brasilense* para a concentração de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em solução nutritiva Sarruge.

Tratamentos	Equações NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Equações NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Controle N/2	$y=0,0008x^2-0,0446x+0,4824$	$y=0,0002x^2-0,0231x+0,2872$
N/2 + Vp16	$y=0,0064x^2-0,1158x+0,5654$	$y=0,0011x^2-0,0339x+0,2883$
N/2 + Lc348	$y=0,0043x^2-0,0875x+0,5307$	$y=0,0012x^2-0,0333x+0,276$
N/2 + Azosp.	$y=0,0033x^2-0,0776x+0,5512$	$y=0,0017x^2-0,0454x+0,354$
N/2+ Azosp.+Vp16	$y=0,0028x^2-0,0719x+0,5015$	$y=0,0023x^2-0,0483x+0,304$
N/2+Azosp.+Lc348	$y=0,0046x^2-0,0934x+0,554$	$y=0,001x^2-0,038x+0,3537$
Controle N	$y=0,0031x^2-0,1017x+0,853$	$y=0,003x^2-0,003x+0,4441$
N+ Vp16	$y=0,006x^2-0,1471x+0,9309$	$y=0,0006x^2-0,0391x+0,5378$
N+ Lc348	$y=0,0077x^2-0,1578x+0,948$	$y=0,002x^2-0,0163x+0,4546$
N + Azosp.	$y=0,0029x^2-0,0942x+0,846$	$y=0,0012x^2-0,0249x+0,5077$
N+ Azosp.+Vp16	$y=0,0061x^2-0,1361x+0,8717$	$y=0,0006x^2-0,0303x+0,4908$
N+Azosp.+Lc348	$y=0,0089x^2-0,1706x+0,9143$	$y=0,0008x^2-0,034x+0,498$

As concentrações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> decresceram em função do tempo avaliado (Figuras 5, 6, 7 e 8). De maneira geral, nos tratamentos inoculados e coinoculados, ocorreu esgotamento quase completo das formas de nitrogênio na solução nutritiva em relação ao tratamento controle sem inoculação, independentemente das doses nitrogenadas de 1mmol L<sup>-1</sup> e 0,5 mmol L<sup>-1</sup>.

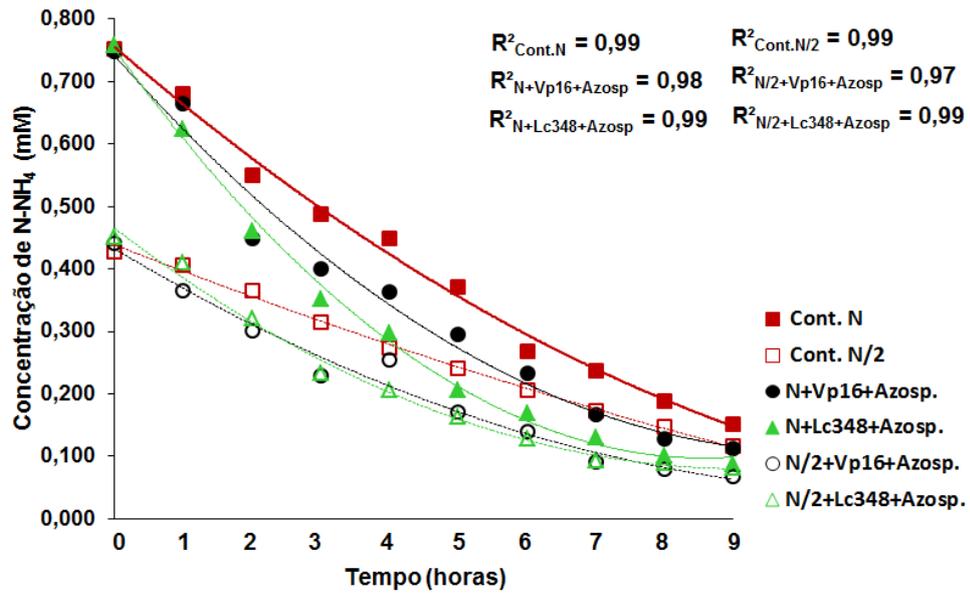
Quando o cultivo foi realizado com 0,5 mmol L<sup>-1</sup> de nitrogênio, e as plantas inoculadas isoladamente com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense*, o tratamento que mais beneficiou a absorção do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi N/2+UFRGS Vp16, e o que menos interferiu na absorção foi o tratamento

N/2+A. *brasilense*. Comportamento semelhante foi observado na absorção de  $\text{NH}_4$  em vasos com  $1\text{mmol L}^{-1}$  de nitrogênio, destacando o tratamento N+UFRGS Vp16 com maior absorção pelas plantas, e o N+A. *brasilense* o que menos alterou a cinética de absorção (Figura 5).



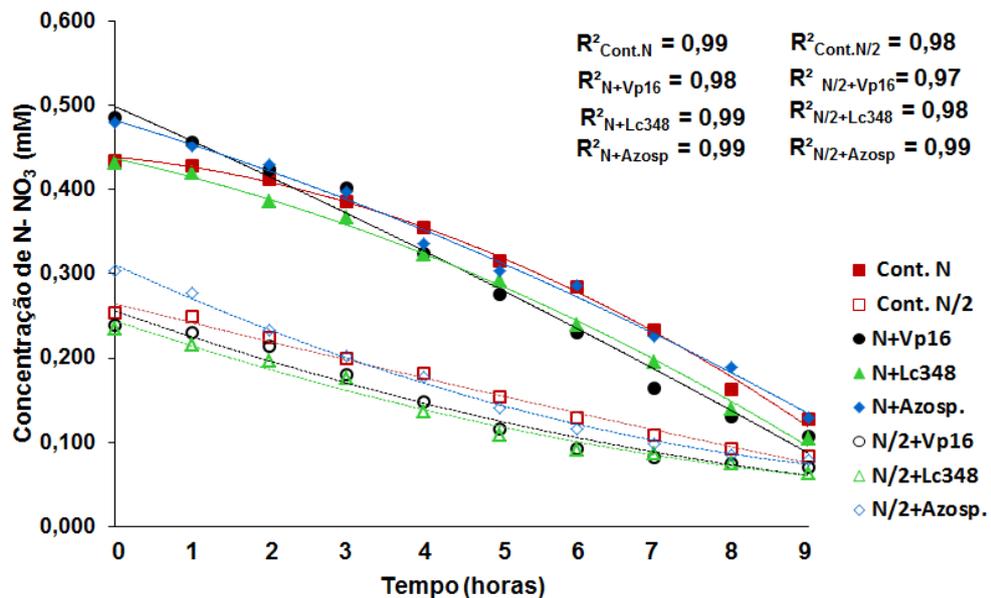
**Figura 5.** Concentração de  $\text{NH}_4^+$  em solução nutritiva Sarruge com cultivo de plantas de milho inoculadas com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *Azospirillum brasilense*, em doses de  $1\text{mmol L}^{-1}$  (N) e  $0,5\text{mmol L}^{-1}$  (N/2) de nitrogênio.

Em plantas coinoculadas com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *A. brasilense* a absorção de  $\text{NH}_4$  foi similar em plantas dos tratamentos N/2+UFRGS Vp16+ *A. brasilense* e N/2+UFRGS Lc348+ *A. brasilense*. A coinoculação também favoreceu a absorção de  $\text{NH}_4$  nos cultivos com a dose de  $1\text{mmol L}^{-1}$  como pode ser observado na Figura 6.



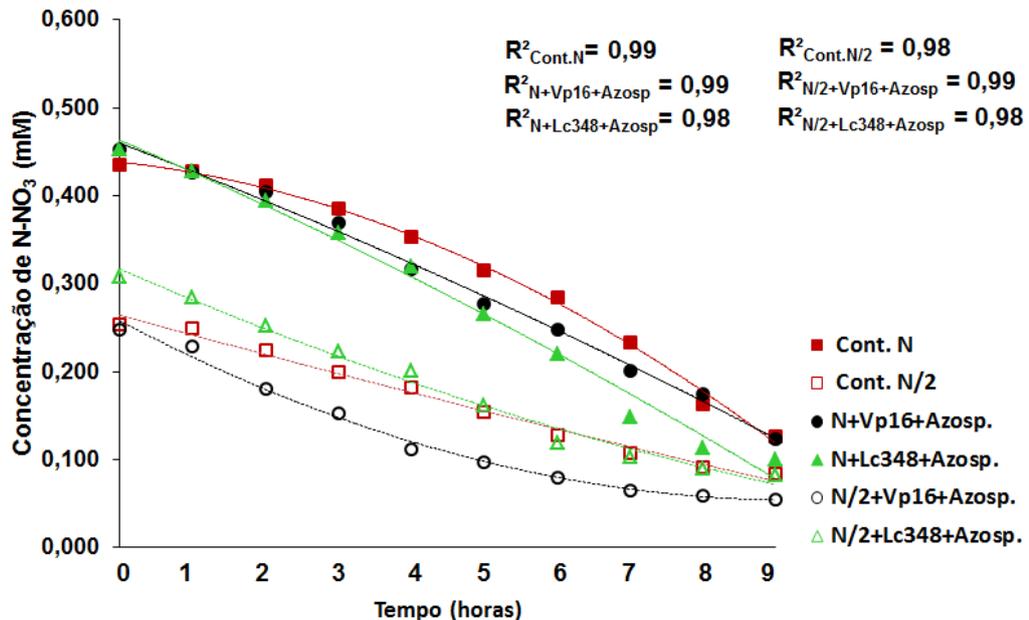
**Figura 6.** Concentração de  $\text{NH}_4^+$  em solução nutritiva Sarruge com cultivo de plantas de milho coinoculadas com rizóbios UFRGS Vp16+*Azospirillum brasilense* e UFRGS Lc348+*Azospirillum brasilense*, em doses de  $1\text{mmol L}^{-1}$  (N) e  $0,5\text{mmol L}^{-1}$  (N/2) de nitrogênio.

A concentração de  $\text{NO}_3^-$  em vasos com  $0,5\text{mmol L}^{-1}$  de nitrogênio decresceu de forma semelhante nos tratamentos inoculados N/2+UFRGS Vp16 e N/2+UFRGS Lc348. Estes rizóbios também alteraram positivamente a absorção no cultivo com  $1\text{mmol L}^{-1}$  de nitrogênio (Figura 7).



**Figura 7.** Concentração de  $\text{NO}_3^-$  em solução nutritiva Sarruge com cultivo de plantas de milho inoculadas com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e *Azospirillum brasilense*, em doses de  $1\text{mmol L}^{-1}$  (N) e  $0,5\text{mmol L}^{-1}$  (N/2) de nitrogênio.

Já para os tratamentos coinoculados, a absorção de  $\text{NO}_3^-$  foi favorecida pelo tratamento N/2+UFRGS Vp16+ *A. brasilense*, em vasos que receberam doses de  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de nitrogênio, e pelo tratamento N+UFRGS Lc348+ *A. brasilense*, em vasos com  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de nitrogênio (Figura 8).



**Figura 8.** Concentração de  $\text{NO}_3^-$  em solução nutritiva Sarruge com cultivo de plantas de milho coinoculadas com rizóbios UFRGS Vp16+*Azospirillum brasilense* e UFRGS Lc348+*Azospirillum brasilense*, em doses de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  (N) e  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  (N/2) de nitrogênio.

Um fato importante a se destacar nos resultados de concentração de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  em solução nutritiva Sarruge é que a inoculação isolada de *A. brasilense* não difere dos tratamentos controle sem inoculação, independentemente das doses nitrogenadas avaliadas, ou seja, os efeitos positivos desta bactéria só aparecem quando estão em conjunto com os rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348. Neste caso, fica evidente o efeito sinérgico da coinoculação, onde os resultados produtivos quando juntos superam os obtidos quando utilizados na forma isolada (Ferlini, 2006; Bárbaro et al., 2008).

Atualmente, os estudos de cinética de absorção são voltados para busca de cultivares mais eficientes em absorver e utilizar os nutrientes. Sob o ponto de vista agrônomo, a eficiência nutricional refere-se à absorção de um determinado nutriente (Graham, 1984). Sob o ponto de vista fisiológico seria a

capacidade de uma planta em absorver o nutriente, distribuí-lo e utilizá-lo em diferentes processos fisiológicos (Goddard & Hollis, 1984). Levando em consideração essas duas abordagens e os resultados deste estudo, pode-se sugerir que a inoculação e coinoculação de RPCPs melhoram a eficiência de absorção de nutrientes.

Os resultados apresentados neste trabalho evidenciam que a inoculação e coinoculação com RPCPs modificam a absorção de nitrogênio em plantas de milho, tanto em alta ou baixa disponibilidade deste nutriente, favorecendo o desenvolvimento e rendimento de grãos. Este fato pode ser observado nos resultados do Capítulo II (Desempenho agrônomico de plantas de milho inoculadas e coinoculadas com rizobactérias promotoras de crescimento).

Trabalhos que avaliam a cinética de absorção de nutrientes em plantas inoculadas ou coinoculadas com RPCPs são escassos na literatura. Entretanto, os resultados apresentados neste estudo mostram a interferência benéfica no mecanismo de absorção de nitrogênio pelas plantas de milho, reforçando o potencial das rizobactérias em promover o crescimento de plantas de interesse econômico.

## **CONCLUSÕES**

A inoculação isolada dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, ou combinada com *Azospirillum brasilense* modifica a cinética de absorção de nitrogênio em plantas de milho híbrido (Morgan 30A77PW).

Nas condições deste estudo, as plantas de milho híbrido (Morgan 30A77PW) inoculadas com rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348 de forma isolada ou combinada com *Azospirillum brasilense* absorvem mais  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$  em relação às plantas não inoculadas.

## 7. CONCLUSÕES GERAIS

A inoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348, e a coinoculação destes isolados com *Azospirillum brasilense* promovem o crescimento dos cereais arroz, milho e trigo.

Em plantas de milho, híbrido Morgan 30A77PW, a inoculação de rizóbios ou a coinoculação com *A. brasilense* não interfere nos componentes de rendimento avaliados (número de espigas, produção de grãos por espiga e peso de 100 grãos). Entretanto, proporciona aumentos de produção de grãos, apresentando uma eficiência relativa superior a 121% em relação aos tratamentos controles sem inoculação. Os incrementos na produção de crescimento em plantas de milho são mais pronunciados quando o cultivo é realizado em manejo irrigado.

A inoculação e coinoculação testadas nesse estudo são capazes de aumentar o rendimento de grãos da cultivar de arroz IRGA 424, apresentando melhores resultados em áreas previamente inoculadas. Com apenas 60% da dose de nitrogênio recomendada para cultura do arroz, os rendimentos são equivalentes à produção do tratamento com 100% da dose de nitrogênio sem inoculação. Isto fica evidente ao se observar os índices de eficiência relativa que variam de 53% a 109%.

A inoculação de rizóbios, isoladamente ou em coinoculação com *A. brasilense* aumenta a produção de grãos de trigo, cultivares TBIO Sossego e BRS Parrudo. A eficiência da inoculação e/ou coinoculação chega a 108% para cultivar TBIO Sossego e 109% para cultivar BRS Parrudo, evidenciando o potencial das rizobactérias utilizadas em promover o crescimento destes cereais.

A cinética de absorção de nitrogênio foi alterada em plantas de milho inoculadas e coinoculadas. Plantas inoculadas e coinoculadas apresentaram maiores  $V_{max}$ , ou seja, estas plantas tem capacidade de absorver o nutriente disponível no meio de forma mais rápida.

Além destes resultados obtidos com as técnicas de inoculação e coinoculação em poáceas produtoras de grãos, é possível verificar efeitos variados quanto à interação rizóbios x poáceas x manejo. Apesar das diferentes respostas de interações em estudos no campo, a inoculação dos rizóbios UFRGS Vp16 e UFRGS Lc348 isolada, ou em conjunto com *A. brasilense* associada a doses de nitrogênio de 50% (milho e trigo) ou 60% (arroz), aumenta o rendimento de grãos das poáceas estudadas, evidenciando uma maior eficiência na absorção de nitrogênio.

No entanto, os resultados apresentados neste trabalho não excluem outros mecanismos que promovam o crescimento de plantas que sejam desconhecidos até o momento.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHEMAD, M., KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University: Science**, Riyadh v. 26, p. 1–20, 2014.

ALVES, J.B. **Seleção de rizóbios para trevo branco**. 2005. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

ALVES, S.R.P.; FRANCISCO, A.L.O.; CARVALHO, T.C. *Azospirillum brasilense* e nitrogênio: atuação no potencial fisiológico de sementes de trigo. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, Guarapuava, v. 10, p. 43-51, 2017.

AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 26, p. 241-248, 2002.

AMARAL FILHO, J.P.R. et al. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 29, p. 467-473, 2005.

ANDRADE, C.L.T.; ALBUQUERQUE, P.E.P. Manejo da irrigação. In: GALVÃO, C.C.; PIMENTEL, M.A., BORÉM, A. (Ed.). **Milho do plantio a colheita**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2017. 382 p.

ANDREUCCI, M. P. **Perdas nitrogenadas e recuperação aparente de nitrogênio em fontes de adubação de capim elefante**. 2007. 204 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagem, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

AOYAMA, E.M.; ONO, E.O.; FURLAN, M.R. Estudo da germinação de sementes de *Lavanda angustifolia* Miller. **Science Agriculture**, Piracicaba, v. 53, p. 267-272, 1996.

ARGENTA, G. et al. Resposta de híbridos simples de milho à redução do espaçamento entre linhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 71-78, 2001.

ARSAC, J.F. et al. Growth enhancement of maize (*Zea mays* L.) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration. **Agronomie**, Aussonne, v. 10, p. 649-654, 1990.

ATIENO, M. et al. Efficiency of different formulations of *Bradyrhizobium japonicum* and effect of coinoculation of *Bacillus subtilis* with two different strains of *Bradyrhizobium japonicum*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 28, n. 7, p. 2541-2550, 2012.

AZAMBUJA, I.H.V.; VERNETTI JÚNIOR, F.J.; MAGALHÃES JÚNIOR, A.M.M. Aspectos socioeconômicos da produção de arroz. In: GOMES, A.S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A.M. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 23-44.

BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 77, p. 549-579, 2005.

BANERJEE, M.R.; YESMIN, L.; VESSEY, J. K. Plant-growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers and biopesticides. In: RAI, M.K. **Handbook of microbial biofertilizers**. Nova York: Food Products Press, 2006. p. 137-181.

BÁRBARO, I.M. et al. **Técnica alternativa**: co-inoculação de soja com *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* visando incremento de produtividade. Disponível em: <<http://www.infobibos.com/Artigos/20084/coinoculacao/index.htm>>. Acesso em: 12 dez. 2017.

BARRETO, M.C.S. et al. Produção e comportamento reológico de biopolímeros produzidos por rizóbios e caracterização genética. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 17, p. 221-227, 2011.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L.E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth: a critical assessment. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 108, p. 77-136, 2010.

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

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, p. 521-577, 2004.

BÉCQUER, C. J. et al. Selection of rhizobium strains, inoculated in corn (*Zea mays*, L.), in field conditions in cattle ecosystems of Sancti Spiritus. **Cuban Journal of Agricultural Science**, La Habana, v. 45, p. 129-138, 2011.

BENIN, G. et al. Estimativas de correlações e coeficientes de trilha como critérios de seleção para rendimento de grãos em aveia. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, p. 9-16, 2003.

BERGAMASCHI, H. et al. **Clima da Estação Experimental da UFRGS (e região de abrangência)**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. 77p.

BERGAMASCHI, H. et al. Déficit hídrico e produtividade na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 243-249, 2006.

BERGONCI, J.I. et al. Eficiência da irrigação em rendimento de grãos e matéria seca de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 949-956, 2001.

BERRADA, H.; FIKRIBENBRAHIM, K. Taxonomy of the rhizobia: current perspectives. **British Microbiology Research Journal**, Wilmington, v. 4, p. 616-639, 2014.

BINOTTO, I. **Eficiência de *Azospirillum brasilense* em plântulas de quatro cultivares de trigo e sua interação com o tratamento de sementes**. 2013. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

BISWAS, J.C. et al. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. **Agronomy Journal**, Madison, v. 92, p. 880–886, 2000.

BLACKMER, A. M. Soil fertility and plant nutrition: bioavailability of nitrogen. In: SUMMER, M. E. (Ed.). **Handbook of soil science**. New York: CRC Press, 2000. p. 3-18.

BORTOLINI, J.G. **Respostas de cultivares de arroz irrigado a inoculação de bactérias diazotróficas**. 2015. 46 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2015.

BRACCINI, A.L. et al. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense* associated with the use of bioregulators in maize. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, p. 58-64, 2012.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C.M. Estádios fenológicos do trigo para a adubação nitrogenada em cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 25, p. 317-323, 2001.

BROCKWELL, J.; HELY, F.W.; NEAL-SMITH, C.A. Some symbiotic characteristics of rhizobia responsible for spontaneous, effective field nodulation of *Lotus hispidus*. **Australian Journal of Experimental Agricultural and Animal Husbandry**, Melbourne, v. 6, p. 365-370, 1966.

BROWN, R.H.; RIGSBY, L.L.; AKIN, D.E. Enclosure of mitochondria by chloroplasts. **Plant Physiology**, Rockville, v. 71, p. 437-439, 1983.

CABALLERO-MELLADO, J. Microbiología agrícola y interacciones microbianas con plantas. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, México, v. 48, p. 154-161, 2006.

CANCELLIER, L.L. et al. Eficiência no uso de nitrogênio e correlação fenotípica em populações tropicais de milho no Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, p. 139-148, 2011.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R.F. (Ed.) et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 375-470.

CARVALHO, T.L.G. et al. Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 11, p. 1-12, 2014.

CATTELAN, A.J. **Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 36 p.

CAVALCANTE, A. G. et al. Production of yellow passion fruit seedlings on substrates with different organic compounds. **African Journal of Agricultural Research**, [Kenya], v. 11, p. 1086-1091, 2016.

CAVALLET, L.E. et al. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 4, p. 129-132, 2000.

CAZETTA, D.A. et al. Qualidade industrial de cultivares de trigo e triticale submetidos à adubação nitrogenada no sistema de plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 67, p. 741-750, 2008.

CHI, F. et al. Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, p. 7271-7278, 2005.

CIAT - CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Componentes del rendimiento em arroz**: guia de estudio. Cali: International Rice Research Institute, 1986. 19 p.

CLAASSEN, N.; BARBER, S.A. A method for characterizing the relation between nutrient concentration and flux into roots of intact plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 54, p. 564-568, 1974.

COMPANT, S. et al. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, p. 1685–1693, 2005.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 42, p. 669-678, 2010.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**. Safra 2016/2017, Primeiro levantamento, outubro 2017. Brasília: CONAB, 2017. v. 3, 162 p.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Evolução dos custos de produção de soja no Brasil**. Brasília: CONAB, 2016. v. 1. 24 p.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Produção de grãos deve ser de 210,3 milhões de toneladas**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/imprensa-noticia.php?id=39820>>. Acesso em: 27 nov. 2017.

CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **A cultura do trigo**. Brasília: Conab, 2017. 218 p.

CORASSA, G.M. et al. Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à adubação nitrogenada em trigo na região norte do Rio Grande do Sul. **Enciclopédia Biosfera Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, p. 1298-1308, 2013.

CORREA, O.S. et al. *Azospirillum brasilense*-plant genotype interactions modify tomato response to bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum* sp.:** cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 87-95.

COSTA, C.N. et al. Efeitos do alumínio na morfologia de raízes e na cinética de absorção de potássio em milho. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 6, p. 251-253, 2000.

COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, p. 436-443, 2000.

DARTORA, J. et al. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, p. 1023-1029, 2013.

DARTORA, J. et al. Co-inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* in maize. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, p. 545-550, 2016.

DAVIES, P.J. **Plant hormones: physiology, biochemistry, and molecular biology**. London: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 6–7.

DEKHILL, S.B., CAHILL, M., STACKBRANDT, E. Transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subs. *largomobilis* to the genus *Azospirillum* as *Azospirillum largomobile* comb. nov., and elevation of *Conglomeromonas largomobilis* subs. *parooensis* to the new type species of *Conglomeromonas*, *Conglomeromonas parooensis* sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 20, p. 72-77, 1997.

DIDONET, D.A. et al. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 401-411, 2000.

DOBBELAERE, S.; CROONENBORGHES, A. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 36, p. 284-297, 2003.

DOBBELAERE, S.; VANDERLEYDEN, J.; OKON, Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rizosphere. **Critical Reviews in Plant Sciences**. Philadelphia, v. 22, p.107-149, 2003.

DÒBEREINER, J.; BALDANI, I. J. Bases científicas para uma agricultura biológica. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 34, p. 869-881, 1982.

ECKERT, B. et al. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, p. 17-26, 2001.

FAGERIA, N.K.; SLATON, N.A.; BALIGAR, V.C. Nutrient management for improving lowland rice productivity and sustainability. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 80, p. 63 -152, 2004.

FAGERIA, N.K.; STONE, L.F. Manejo do nitrogênio. In: FAGERIA, N.K.; STONE, L.F.; SANTOS, A.B. **Manejo da fertilidade do solo para o arroz irrigado**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. p. 51-94.

FERLINI, H.A. **Co-Inoculación en Soja (*Glicyne max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense***. 2006. Disponível em: <<https://www.engormix.com/agricultura/articulos/co-inoculacion-en-soja-t26446.htm>>. Acesso em: 21 jan. 2018.

FERREIRA, D.F. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2000. 66 p.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA, D.A. **ExpDes: experimental designs package**. R package version 1.1.2. 2013. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=ExpDes>>. Acesso em: 17 jul. 2017.

FERREIRA, J. S. et al. Seleção de veículos para o preparo de inoculante com bactérias diazotróficas para arroz inundado. Rio de Janeiro, **Agronomia, Garça**, v. 37, p. 6-12, 2003.

FERREIRA, J.S.; GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, V.L.D. Produção de grãos de arroz em função da inoculação com *Herbaspirillum seropedicae*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 7, p. 826-833, 2011.

FIGUEIREDO, M.V.B.; SELDIN, L.; ARAUJO, F.F. Plant growth promoting rhizobacteria: Fundamentals and applications. In: MAHESHWARI; D.K. **Plant growth and health promoting bacteria**. Berlin: Heidelberg, 2010. p. 21-43.

FLEMMING, H.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**. v. 8, p. 623–633, 2010.

FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J. L. **Manual da cultura do arroz**. Jaboticabal: Funep, 2006. 589 p.

FRANCO, D.F. et al. Arranjo espacial de plantas e contribuição do colmo principal e dos perfilhos na produção de grãos do arroz irrigado (*Oryza sativa* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, p. 32-41, 2011.

FRANKENBERGER, W.T.J.; ARSHAD, M. **Phytohormones in soils: microbial production and function**. New York. Dekker, 1995. 503 p.

FREITAS, J. G. et al. Produtividade de cultivares de arroz irrigado resultante da aplicação de doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 66, p. 317-325, 2007.

FRIZZO, M.L.S. **Isolamento de rizóbios nativos para *Lotus corniculatus* e *L. uliginosus* em solos do Rio Grande do Sul**. 2007. 68 f. (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FURTINI NETO, A.E. **Eficiência nutricional, cinética de absorção e frações fosfatadas em *Eucalyptus* ssp.** 1994. 99 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

GALINDO, F. S. et al. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 40, p. 1-18, 2016.

GALINDO, F.S. **Desempenho agrônômico do milho e do trigo em função da inoculação com *Azospirillum brasilense* e doses e fontes de nitrogênio.** 2015. 150 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2015.

GARCIA DE SALAMONE, I.E. et al. Biological nitrogen fixation in *Azospirillum* strain-maize genotype associations as evaluated by <sup>15</sup>N isotope dilution technique. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 23, p. 249-256, 1996.

GARCIA, N.F.S et al. Doses and application methods of *Azospirillum brasilense* in irrigated upland rice. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 20, p. 990-995, 2016.

GARCIA, N.F.S. **Culturas antecessoras e inoculação de *Azospirillum brasilense* em arroz de terras altas e feijão de inverno em sucessão inoculado com *Rhizobium tropici*.** 2017. 62 f. Dissertação (Mestrado) – Área de conhecimento. Sistemas de Produção, Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2017.

GERLACH, G.A.X. **Leguminosas em consórcio com milho segunda safra e o seu efeito no manejo do nitrogênio na soja e arroz de terras altas cultivados em sucessão.** 2017. 107 f. Tese (Doutorado em Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2017.

GLICK, B.R. et al. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 119, p. 329–39, 2007.

GODDARD, R.E.; HOLLIS, C.A. The genetic basics of forest tree nutrition. In: BOWEN, G.D.; NAMBIER, E.K.S. (Ed.). **Nutrition of plantation forest.** London: Academic, 1984. p. 237-258.

GOMES, R.F. et al. Efeito de doses e da época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agrônômicos da cultura do milho sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 31, p. 931-938, 2007.

GORDILLO-DELGADO, F.; MARÍN, E.; CALDERÓN, A. Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* bacteria on maize photosynthetic activity evaluated using the photoacoustic technique. **International Journal of**

**Thermophysics**, New York, v. 37, p. 1-11, 2016.

GRAÇA, M.A.S. et al. A conceptual model of litter breakdown in low order streams. **International Review of Hydrobiology**, Berlin, v. 100, p. 1-12, 2015.

GRAHAM, R.D. Breeding for nutritional characteristics in cereals. In: TINKER, P.B.; LAUCHLI, A. (Ed.). **Advances in plant nutrition**, New York: Praeger, 1984. p. 57-102.

GROHS, M. et al. Desempenho de cultivares de arroz com uso de reguladores de crescimento, em diferentes sistemas de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, p. 776-783, 2012.

GUIMARAES, S. L. et al. Efeito da inoculação de bactérias diazotrófica endofíticas em arroz de sequeiro. Rio de Janeiro, **Agronomia**, Garça, v. 37, p. 25-30, 2003.

GUIMARÃES, S.L. et al. Bactérias diazotróficas e adubação nitrogenada em cultivares de arroz. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 4, p. 32-39, 2010.

GUIMARÃES, S.L.; BALDANI, V.L.D. Produção de arroz inoculado com bactérias diazotróficas marcadas com resistência induzida ao antibiótico estreptomicina. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 56, p. 125-132, 2013.

GUTIERREZ-ZAMORA, M.L.; ROMERO, E.M. Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.). **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 91, p. 117-126, 2001.

HAHN, L. et al. Growth promotion in maize with diazotrophic bacteria in succession with ryegrass and white clover. **American and Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**, Faisalabad, v. 14, p. 11-16, 2014.

HAHN, L. **Promoção de crescimento de plantas poáceas e leguminosas inoculadas com rizóbio e bactérias associativas**. 2013. 171 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

HALLMANN, J. Plant interactions with endophytic bacteria. In: JEGER, M.J.; SPENCE, N.J. **Biotic interactions in plant-pathogen associations**. London: CAB International, 2001. p. 87-119.

HALLMANN, J.; BERG, G. Spectrum and population dynamics of bacterial root endophytes. In: SCHULZ, B.J.E.; BOYLE, C.J.C.; SIEBER, T.N. **Microbial root endophytes**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 15–31.

HAN, J. et al. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol

- agent against various pathogens. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 28, p. 66-76, 2005.
- HARA, F. A. S.; OLIVEIRA, L. A. Características fisiológicas e ecológicas de isolados de rizóbios oriundos de solos ácidos e álicos de Presidente Figueiredo, Amazonas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, p. 343-357, 2004.
- HARTMANN, A. et al. Plant-driven selection of microbes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 321, p. 235-257, 2009.
- HAYAT, R. et al. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 60, p. 579-598, 2010.
- HOLEN, D.L. et al. Response of winter wheat to simulated stand reduction. **Agronomy Journal**, Geneva, v. 93, p. 364-370, 2001.
- HUERGO, L.F. et al. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. **Azospirillum sp.:** cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.17-35.
- HUNGRIA, M. et al. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 331, p. 413-425, 2010.
- HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*:** inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: EMBRAPA Soja, 2011. 37 p.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja:** componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 49, p. 791-801, 2013.
- INSTITUTO DE PESQUISAS AGRONÔMICAS - IPAGRO. **Observações meteorológicas do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1979. 271 p.
- IRGA- INSTITUTO RIO-GRANDENSE DO ARROZ. **Média de produtividade do arroz no RS foi a melhor dos últimos tempos.** Disponível em: <[http://www.rs.gov.br/conteudo/260822/media-de-produtividade-do-arroz-no-rs-foi-a-melhor-dos-ultimos-tempos/termosbusca=\\*](http://www.rs.gov.br/conteudo/260822/media-de-produtividade-do-arroz-no-rs-foi-a-melhor-dos-ultimos-tempos/termosbusca=*)>. Acesso em: 17 dez. 2017.

JALEEL, C.A. et al. Antioxidant potentials and ajmalicine accumulation in *Catharanthus roseus* after treatment with gibberellic acid. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 60, p. 195–200, 2007.

JEZEWSKI, T.J.; SILVA, J A G.; FERNANDES, S.B.V. Efeito da inoculação de *Azospirillum* em trigo, isolado e associado a estimulante de crescimento no noroeste do RS. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPEL, 19., CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 12., MOSTRA CIENTÍFICA DA UFPEL, 2., 2010, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2010. v. 1, p. 568-571.

JOSHI, A. K. et al. Stay green trait: variation, inheritance and its association with spot blotch resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). **Euphytica**, Dordrecht, v.153, p. 59-71, 2007.

KAPPES, C. et al. Manejo do nitrogênio em cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 13, p. 201-217, 2014.

KAZI, N. et al. The response of wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense* in the field. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 196, p. 368-378, 2016.

KENNEDY, I.R.; CHOUDHURY, A.T.M.A.; KECSKÉS, M.L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 36, p. 1229-1244, 2004.

KHAMMAS, K.M. et al. *Azospirillum irakense* sp. nov. a nitrogenfixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. **Research in Microbiology**, Amsterdam, v.140, p. 679-693, 1989.

KLOEPPER, J.W.; SCHROTH, M.N. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANT PATHOGENIC BACTERIA, 4., 1978, Angers. **Proceedings ...** Angers, France: INRA. Station de Pathologie Végétale et de Phytobactériologie, 1978. v. 2, p. 879–882.

KUNZ, J. H. et al. Uso da radiação solar pelo milho sob diferentes preparos do solo, espaçamento e disponibilidade hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 1511-1520, 2007.

KUSS, A. V. et al. Inoculação de bactérias diazotróficas e desenvolvimento de plântulas de arroz irrigado em solução nutritiva e câmara de crescimento. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, Porto Alegre, v. 14, p. 23-33, 2007.

KUSS, A.V. **Fixação de nitrogênio por bactérias diazotróficas em cultivares de arroz irrigado**. 2006. 109 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

LANA, M. C. et al. Arranjo espacial e adubação nitrogenada em cobertura na cultura do milho. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, p. 433-438, 2009.

LANA, M.C. et al. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, p. 399-405, 2012.

LARA CABEZAS, W.A.R. et al, Balanço da adubação nitrogenada sólida e fluida de cobertura na cultura do milho em sistema plantio direto no Triângulo Mineiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 14, p. 363-376, 2000.

LAVRINENKO, K. et al. *Azospirillum thiophilum* sp. nov., a novel diazotrophic bacterium isolated from a sulfide spring. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 60, p. 2832-2837, 2010.

LIN, S.Y. et al. *Azospirillum picis* sp. nov., isolated from discarded tar. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 59, p. 761-765, 2009.

LIU, S. et al. Structure and ecological roles of a novel exopolysaccharide from the arctic sea ice bacterium *Pseudomonas* sp. Strain SM20310. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 1, p. 224-230, 2013.

LUDWIG, R.L. **Inoculation with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilizer in wheat cultivars**. 2015. 104 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

LYRA, M.C.C.P. et al. Phenotypic and molecular characteristics of rhizobia isolated from nodules of peanut (*Arachis hypogaea* L.) grown in Brazilian spodosols. **African Journal Biotechnology**, Nairobi, v. 12, p. 2147-2156, 2013.

MACHADO, R.G. **Promoção de crescimento em poáceas forrageiras por rizóbios isolados de *Lotus corniculatus***. 2011. 70 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MACHADO, R.G. **Seleção de bactérias promotoras de crescimento para plantas forrageiras**. 2015. 123 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

MAGALHÃES, F.M.M. et al. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 55, p. 417-430, 1983.

MARINI, D. et al. Growth and yield of corn hybrids in response to association with *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, p. 117-123, 2015.

MARKS, B.B. et al. Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of Bradyrhizobium spp. and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. **AMB Express**, Heidelberg, v. 3, p.1-10, 2013.

MARKS, B.B. et al. Maize growth promotion by inoculation with *Azospirillum brasilense* and metabolites of *Rhizobium tropici* enriched on lipo-chitooligosaccharides (LCOs). **AMB Express**, Heidelberg, v. 5, p. 1-11, 2015.

MARRA, L.M. et al. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 357, p. 289-307, 2012.

MARRA, L.M. et al. Solubilisation of inorganic phosphates by inoculant strains from tropical legumes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, p.603-609, 2011.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3. ed. London: Elsevier, 2012. 643 p.

MARTÍNEZ-VIVEROS, O. et al. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Chillán, v. 10, p. 293–319, 2010.

MATSUMURA, E. et al. Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 1, p. 1-14, 2015.

MATSUSHIMA, S. Physiology of high-yielding rice plants from the viewpoint of yield components. In: MATSUO, T. et al. (Ed.). **Science of the rice plant**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995. p. 737-766.

MAZZUCHELLI, R.C.L.; SOSSAI, B.F.; ARAÚJO, F.F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v.10, p. 40-47, 2014.

MEHNAZ, S.; WESELOWSKI, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum zeae* sp. nov., a diazotrophic bacterium isolated from rhizosphere soil of *Zea mays*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 57, p. 2805–2809, 2007b.

MEHNAZ, S.; WESELOWSKI, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum canadense* sp. nov., a nitrogenfixing bacterium isolated from corn rhizosphere.

**International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 57, p. 620–624, 2007a.

MEIRELLES, F.C. et al. Análise econômica do cultivo de arroz irrigado por aspersão sob diferentes manejos do solo, doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, p. 220-231, 2015.

MELO, F.B.; CORÁ, J.E.; CARDOSO, M. J. Fertilização nitrogenada, densidade de plantas e rendimento de milho cultivado no sistema plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, p. 27-31, 2011.

MIRANSARI, M.; SMITH, D.L. Rhizobial lipo-chitooligosaccharides and gibberellins enhance barley (*Hordeum vulgare* L.) seed germination. **Biotechnology**, Faisalabad, v. 8, p. 270–275, 2009.

MOREIRA, F.M.S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**, Teresina, v. 1, p. 74-99, 2010.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.

MOURA, L.C. et al. Micropropagação de Sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, p. 1691-1698, 2012.

MULLER, T.M. et al. Combination of inoculation methods of *Azospirillum brasilense* with broadcasting of nitrogen fertilizer increases corn yield. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, p. 210-215, 2016.

MUMBACH, G.L. et al. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 18, p. 97-103, 2017.

MUS, F. et al. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 82, p. 3698–3710, 2016.

NASSAR, N.; ORTIZ, R. Breeding cassava to feed the poor. **Scientific American**, New York, v. 302, p. 78-82, 2010.

NIELSEN, N.E.; BARBER, S.A. Differences among genotypes of corn in the kinetics of P uptake. **Agronomy Journal**, Geneva, v. 70, p. 695-698, 1978.

OKON, Y.; GONZALEZ-LABANDERA, C.A. Agronomic applications of *Azospirillum*. In: RYDER, M.H.; STEPHENS, G.D. (Ed.). **Improving plant**

**productivity with rhizosphere bacteria.** Glen Osmond: CSIRO, 1994. p. 274-278.

OKON, Y.; KAPULNIK, Y. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 90, p. 3-16, 1986.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. **Applied and Environment Microbiology**, Washington, v. 6, p. 366-370, 1997.

OLIVEIRA, A.L.M. et al. Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, Londrina, v. 3, n. 1, p. 56-77, 2014.

OLIVEIRA, M.A.D. et al. Adubação fosfatada associada à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* no desempenho agrônomico do milho. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 38, p. 18-25, 2015.

OLIVEIRA, S.M. **Rizobactérias promovem o crescimento de feijoeiro-comum e de milho por diferentes processos.** 2011. 104 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

OSORIO FILHO, B. D. **Rizóbios eficientes em Lotus em condições de estresse hídrico e promotores de crescimento em arroz irrigado.** 2009. 113 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

OSORIO FILHO, B.D. et al. Rhizobia enhance growth in rice plants under flooding conditions. **American and Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**, Faisalabad, v.14, p. 707-718, 2014.

PANDOLFO, C. M. et al. Desempenho de milho inoculado com *Azospirillum* brasileiro associado a doses de nitrogênio em cobertura. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 27, p. 94-99, 2015.

PANWAR, J.D.S.; SINGH, O. Response of *Azospirillum* and *Bacillus* on growth and yield of wheat under field conditions. **Indian Journal of Plant Physiology**, New Delhi, v. 5, p. 108–110, 2000.

PARTIDA-MARTÍNEZ, L.P.; HEIL, M. The microbe-free planta: fact or artifact? **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 2, p. 1-16, 2011.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 32, p. 911-920, 2008.

PEDRAZA R.O.; BELLONE C, H.; BELLONE, S.C. *Azospirillum* inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic

bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 45, p. 36-43, 2009.

PEIX, A. et al. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 33, p. 103-110, 2001.

PENG, G. et al. *Azospirillum melinis* sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses Grass. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 56, p. 1263–1267, 2006.

PEREIRA, L.C. et al. Rendimento do trigo (*Triticum aestivum*) em resposta a diferentes modos de inoculação com *Azospirillum brasilense*. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 40, p. 105-113, 2017.

PERRIG, D. et al. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 75, p. 1143-1150, 2007.

POVINELI, V.O. **Fixação biológica de nitrogênio por *Azospirillum brasilense* na cultura do milho**. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Mecanização em Agricultura de Precisão) - Faculdade de Tecnologia de Pompéia, Pompéia-SP, 2012.

QUADROS, P. D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipos de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

QUIALA, E. et al. Morphological and physiological responses of proliferating shoots of teak to temporary immersion and BA treatments. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 109, p. 223-234, 2012.

RAMBO, L. et al. Monitoramento do nitrogênio na planta e no solo para predição da adubação nitrogenada em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 407-417, 2007.

REDDY, P.M. et al. Rhizobial communication with rice roots: induction of phenotypic changes, mode of invasion and extent of colonization. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 194, p. 81–98, 1997.

REEVES, T.G. et al. Removing nutritional limits to maize and wheat production: a developing country perspective. In: KENNEDY, I.R.; CHOUDHURY, A. (Ed.). **Biofertilizers in action**. Camberra: Rural Industries. Research and Development Corporation, 2002, p. 11-36.

REICHEMBAK, M.P. et al. Inoculação de *Azospirillum brasilense* e fontes de nitrogênio mineral em arroz de terras altas irrigado por aspersão. In: CONGRESSO BRASILEIRO ARROZ IRRIGADO, 7., 2011, Balneário Camboriú. **Anais...** Itajaí: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, 2011. v. 2, p. 259-262.

REINHOLD, B. et al. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogenfixing organism associated with roots of kallar grass (*Leptochloa fusca* (L) Kunth). **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 37, p. 43-51, 1987.

REIS, V.M. **Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em poáceas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22 p.

RENWICK, A.; CAMPBELL, R.; COC, S. Assesment of in vivo screening systems for potential biocontrol agents of Gaeumannomyces graminis, **Plant Pathology**, Oxford, v. 40, p. 524-532, 1991.

REPKE, R.A. et al. Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 12, p. 214-226, 2013.

REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 29., 2012, Gravatal-SC. **Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Itajaí: SOSBAI, 2012. 179 p.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 10., 2016, Londrina. **Informações técnicas para trigo e triticales: safra 2017**. Londrina-PR, Embrapa, 2017. 240 p.

RODRIGUES, L.F.O.S. et al. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 18, p. 31-37, 2014.

RODRIGUEZ, H. et al. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 91, p. 552-555, 2004.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, New York, v. 17, p. 319-339, 1999.

RODRÍGUEZ-DÍAZ, M. et al. A Review on the taxonomy and possible screening traits of plant growth promoting Rhizobacteria. In: AHMAD, I.; PICHTEL, J.; HAYAT, S. (Ed.). **Plant-Bacteria Interactions: strategies and techniques to promote plant growth**. Weinheim: Wiley-VCH, 2008. p. 55-80.

ROESCH, L.F.W. et al. Characterization of diazotrophic bacteria associated with maize: effect of plant genotype, ontogeny and nitrogen-supply. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 22, p. 967-974, 2006.

RONSANI, A.L.; PINHEIRO, M.G.; PURIN, P. Efeitos de diferentes formulações e técnicas de inoculação no crescimento da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34., 2013, Florianópolis. **Anais ...** Viçosa: SBCS, 2013.

ROSÁRIO, J. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* associada à redução na adubação nitrogenada de cobertura em cultivares de trigo**. 2013. 85 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.

ROSSO, R.B. et al. Influência do manejo da altura de lâmina de água e densidade de semeadura nos componentes de produção do arroz no sistema de cultivo pré-germinado. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, v. 115, p. 19-28, 2016.

RUEDELL C.M. et al. Pre and post-severance effects of light quality on carbohydrate dynamics and microcutting adventitious rooting of two Eucalyptus species of contrasting recalcitrance. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 69, p. 235–245, 2013.

SAIKIA, S.P.; JAIN, V. Biological nitrogen fixation with non-legumes: an achievable Target or a dogma? **Current Science**, Bangalore, v. 92, p. 317-322, 2007.

SALA, V.M.R. et al. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 29, p. 345-352, 2005.

SALA, V.M.R. et al. Resposta de genótipos de trigo à inoculação de bactérias diazotróficas em condições de campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, p. 833-842, 2007.

SANES, F.S.M. et al. Morfologia de raízes e cinética de absorção de potássio em genótipos de arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 37, p. 688-697, 2013.

SANGOI, L. et al. Desempenho agrônômico do milho em razão do tratamento de sementes com *Azospirillum* sp. e da aplicação de doses de nitrogênio mineral. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 1, p. 1141-1150, 2015.

SARKAR, A.; REINHOLD-HUREK, B. Transcriptional profiling of nitrogen fixation and the role of NifA in the diazotrophic endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, p. 1-12, 2014.

SARRUGE, J.R. Soluções nutritivas. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 1, p. 231-233, 1975.

SCALCO, M. S. et al. Produtividade e qualidade industrial do trigo sob diferentes níveis de irrigação e adubação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 400-410, 2002.

SCHEUER, P.M. et al. Characterization of Brazilian wheat cultivars for specific technological applications. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, p. 816-826, 2011.

SCHEUER, P.M. et al. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 13, p. 211-222, 2011.

SEESURIYACHAN, P. et al. Optimization of exopolysaccharide overproduction by lactobacillus confuses in solid state fermentation under high salinity stress. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Abingdon, v. 76, p. 912-917, 2012.

SEREZINO, L.H.D. **Caracterização fisiológica e transcricional dos processos de aquisição e remobilização de nitrato em cana-de-açúcar (Saccharum spp.)**. 2015. 112 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

SESSITSCH, A.; REITER, B.; BERG, G. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 50, p. 239-249, 2004.

SHUKLA, S.K. et al. Improving rhizospheric environment and sugarcane ratoon yield through bioagents amended farm yard manure in udic ustochrept soil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 99, p. 158-168, 2008.

SILVA, E.C. et al. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho em plantio direto sobre Latossolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 29, p. 353-362, 2005.

SILVA, E.C. et al. Épocas e formas de aplicação de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 29, p. 725-733, 2005.

SILVA, F.C. Análise química de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (Ed.). **Manual de Análises Químicas de Solo, Plantas e Fertilizantes**. 2 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. p. 193-204.

SILVA, F.G. **Bactérias halotolerantes associadas a plantas de *Atriplex nummularia* L. e sua inoculação em mudas**. 2014. 89 f. Dissertação (Mestrado em Produção Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Produção

Agrícola, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2014.

SILVA, P.R.F. et al. Grain yield and kernel protein content increases of maize hybrids with late nitrogen sidedresses. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, p. 487-492, 2005.

SILVEIRA, E.L. **Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva**. 2008. 99 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

SINGH, K.P. et al. Yield and soil nutrient balance of sugarcane plant-ratoon system with conventional and organic nutrient management in subtropical India. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 79, p. 209-219, 2007.

SINGH, R.K. et al. Isolation and identification of natural endophytic rhizobia from Rice (*Oryza sativa* L.) through rDNA PCR-RFLP and sequence analysis. **Current Microbiology**, New York, v. 52, p. 117-122, 2006.

SKONIESKI, F.R. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em milho para produção de silagem e grãos**. 2015. 94 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 31, p. 425-448, 2007.

SPERANDIO, M.V.L. **Expressão gênica de transportadores de nitrato e amônio, proteína reguladora de NAR e bombas de prótons em Arroz (*Oryza sativa* L.) e seus efeitos na eficiência de absorção de nitrogênio**. 2011. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

SPOLAOR, L.T. et al. Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônomo de milho pipoca. **Bragantia**, Campinas, v. 75, p. 33-40, 2016.

STRECK, E.V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. Porto Alegre: EMATER/RS, ASCAR, 2008. 222 p.

STROSCHEIN, M.R.D. **Caracterização de bactéria fixadora de nitrogênio em *Lupinus albus***. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artemed, 2013. 954 p.

- TARRAND, J.J.; KRIEG, N.R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with description of a new genus, *Azospirillum* gen. nov., and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal Microbiology**, Ottawa, v. 24, p. 976-980, 1978.
- TEIXEIRA FILHO, M.C.M. et al. Análise econômica da adubação nitrogenada em trigo irrigado sob plantio direto no cerrado. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, p. 446-443, 2010.
- TSAVKELOVA, E.A. et al. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. **Microbiological Research**, Jena, v. 162, p. 69- 76, 2007.
- USDA - DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DOS ESTADOS UNIDOS. **Notícias agrícolas**. 2017. Disponível em: <<http://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/usda/>>. Acesso em: 27 nov. 2017.
- VALÉRIO, I.P. et al. Desenvolvimento de afilhos e componentes do rendimento em genótipos de trigo sob diferentes densidades de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 319-326, 2008.
- VALÉRIO, I.P. et al. Fatores relacionados à produção e desenvolvimento de afilhos em trigo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, p. 1207-1218, 2009.
- VELÁZQUEZ, E. et al. Current status of the taxonomy of bacteria able to establish nitrogen-fixing legume symbiosis. In: KHAN, M. S. (Ed.). **Microbes for legume improvement**. Vienna: Springer Vienna, 2017. 417 p.
- VERESOGLOU, S.D.; MENEXES G. Impact of inoculation with *Azospirillum* spp. on growth properties and seed yield of wheat: a meta-analysis of studies in the ISI Web of Science from 1981 to 2008. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 337, p. 469–480, 2010.
- VERMA, S.C.; LADHA, J.K.; TRIPATHI, K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophic from deep water rice. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 91, p. 127-141, 2001.
- VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, **Plant Soil**, Dordrecht, v. 255, p. 571-586, 2003.
- VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root nodule bacteria**. London: International Biological Programme, 1970. 164 p.
- VOGEL, G.F.; FEY, R. Estímulo do potencial germinativo e fisiológico de centeio e triticale por *Azospirillum brasilense*, submetidos ao tratamento químico de sementes. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 15, p. 493-498, 2016.

VOGT, G.A. et al. Desempenho de genótipos de milho na presença ou ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada de cobertura. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 27, p. 49-54, 2014.

WEBSTER, G. et al. Interactions of rhizobia with rice and wheat. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 194, p. 115–122, 1997.

WOBETO, C. **Padrão de afilhamento, sobrevivência de afilhos e suas relações com o rendimento de grãos em trigo**. 1994. 102 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1994.

XIE, C.; YOKOTA, A. *Azospirillum oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 55, p. 1435-1438, 2005.

XIE, G. T. et al. Cultivable heterotrophic N<sub>2</sub>-fixing bacterial diversity in rice field in the Yangtze River Plain, **Biology and Fertility Soils**, Berlim, v. 37, p. 29-38, 2003.

YANNI, Y.G. et al. Natural endophytic association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii* and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 194, p. 99–114, 1997.

YANNI, Y.G. et al. The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii* with rice roots. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 28, p. 845-870, 2001.

YOUNG, C.C. et al. *Azospirillum rugosum* sp. nov., isolated from oil-contaminated soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 58, p. 959–963, 2008.

ZAGONEL, J. et al. Doses de nitrogênio e densidade de plantas com e sem um regulador de crescimento afetando o trigo, cultivar OR-1. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 25-29, 2002.

ZAHIR, A.Z.; ARSHAD, M.; FRANKENBERGER, W.T. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 81, p. 97-168, 2004.

ZAKHIA, F.; LAJUDIE, P. Taxonomy of Rhizobia. **Agronomie**, Aussonne, v. 21, p. 569- 576, 2001.

ZHOU, Y. et al. *Azospirillum palatum* sp. nov., isolated from forest soil in Zhejiang province, China. **Journal of General Applied Microbiology**, Tokyo, v. 55, p. 1-7, 2009.

## 9. APÊNDICES

### Apêndice 1. Solução Nutritiva Sarruge (1975).

Componentes	Solução estoque	Para 1 L	Para 18L	Para 25% (diluídos em 18L)
Macronutrientes				
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,1 g (1 M)	1 ml	18 ml	4,5 ml
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	246,4 g (1 M)	2 ml	36 ml	9 ml
CaCl <sub>2</sub> <sup>(1)</sup>	111,1 g (1 M)	5 ml	90 ml	22,5 ml
KCl	74,6 g (1 M)	5 ml	90 ml	22,5 ml
Fe EDTA <sup>(2)</sup>	1M	1 ml	18 ml	4,5 ml
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> *	80 g (1 M)	1 ml	18 ml	4,5 ml
Micronutrientes				
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86 g			
ZnCl <sub>2</sub>	0,1 g	1 ml	18 ml	
CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0,04 g	Sol.	Sol.	4,5 ml
NaMoO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0,02 g	estoque	estoque	Sol. estoque
MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O**	1,81 g			

\* Só é utilizado em substrato líquido, pois o solo do RS possui muito manganês. Pode ser utilizado o NaMoO<sub>4</sub> . 2H<sub>2</sub>O

<sup>1</sup> Solução estoque Fe EDTA

Componentes	Para 1 L de solução
Na EDTA (C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> . 2H <sub>2</sub> O)	3,72 g
FeSO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O*	3,78 g
Água destilada	1 L

Obs.: O pH da solução nutritiva Sarruge deve ser ajustado para 6,0.

### Apêndice 2. Meio Levedura-Manitol – LM (Vincent, 1970).

Componentes	Concentração final	Solução estoque	Para 1 L de meio
Manitol	10,0 g/L	-	10 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5 g/L	50 g	10 ml sol estoque
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2 g/L	20 g	10 ml sol estoque
NaCl	0,1 g/L	10 g	10 ml sol estoque
Extrato de levedura	0,5 g/L	-	0,5 g

Obs.: O pH do meio LM deve ser ajustado para 6,8.

## **10. RESUMO BIOGRÁFICO**

Franciane Lemes dos Santos nasceu em Aparecida do Taboado, Mato Grosso do Sul, Brasil, em 02 de abril de 1987. É filha de Francisco Aparecido dos Santos e Fátima Palmier Lemes dos Santos. O ensino fundamental e médio foram cursados na Escola Municipal Coronel João Alves Lara, Escola Estadual Frei Vital de Garibaldi e Fundação Lowtons de Educação e Cultura (FUNLEC). Em 2005, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), onde trabalhou desde o segundo semestre da graduação como bolsista de iniciação científica, graduando-se em janeiro de 2010. Em 2011, ingressou no mestrado no Programa de Produção Vegetal da Universidade Federal de Goiás, na linha de pesquisa Solos e Nutrição de Plantas. Em março de 2014 ingressou no curso de Doutorado, do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na área de Biologia e Bioquímica do Solo, sob a orientação do Professor Enilson Luiz Saccol de Sá.