

Bactérias promotoras de crescimento associadas a adubação nitrogenada de cobertura no desempenho agrônômico de milho pipoca

Plant growth-promoting bacteria associated with nitrogen fertilization at topdressing in popcorn agronomic performance

Leandro Teodoski Spolaor¹, Leandro Simões Azeredo Gonçalves^{1*}, Odair José Andrade Pais dos Santos¹, André Luiz Martinez de Oliveira¹, Carlos Alberto Scapim², Filipe Augusto Bengosi Bertagna², Mauricio Carlos Kuki²

1. Universidade Estadual de Londrina - Departamento de Agronomia - Londrina (PR), Brasil.

2. Universidade Estadual de Maringá - Departamento de Agronomia - Maringá (PR), Brasil.

RESUMO: A utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal é uma alternativa promissora e de baixo impacto ambiental para aumentar a eficiência de uso de fertilizantes químicos, garantindo elevadas produtividades com melhor relação custo-benefício. Na cultura do milho, diversos trabalhos vêm demonstrando o aumento de rendimento de grãos quando inoculados com *Azospirillum* spp. No caso do milho pipoca, trabalhos relacionados ao uso da inoculação sobre a produtividade da cultura são inexistentes. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da inoculação do produto comercial Masterfix L (*A. brasilense* Ab-V5 e *A. brasilense* Ab-V6) e da formulação experimental UEL (*A. brasilense* Ab-V5 e *Rhizobium* sp. 53GRM1), associada à adubação nitrogenada, sobre o desempenho agrônômico de milho pipoca. Os experimentos foram conduzidos em Londrina e Maringá (PR), sob o delineamento de blocos casualizados, com quatro repetições, em esquema de parcela subdividida, sendo locados nas parcelas os inoculantes (sem inoculante, Masterfix L e UEL) e, nas subparcelas, doses de N em cobertura no estágio V6, utilizando-se o sulfato de amônio (0, 50, 100 e 150 kg·ha⁻¹). Pela análise de variância, houve efeitos significativos ($p < 0,05$) da inoculação (ambiente Londrina) e doses de N (ambos os ambientes) apenas para rendimento de grãos. Não foram observados efeitos da inoculação na produtividade do milho quando realizados conjuntamente com as adubações de cobertura. Na ausência da adubação de cobertura, os inoculantes Masterfix L e UEL foram superiores ao não inoculado, com incrementos médios na produtividade de 13,21 e 26,61%, respectivamente.

Palavras-chave: *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium* sp., inoculantes, rendimento de grãos.

ABSTRACT: The use of plant growth-promoting bacteria is a promising alternative with low environmental impact to increase the efficiency of use of chemical fertilizers, ensuring high yield with better cost-effective ratio. In maize crops, several studies have demonstrated an increased yield when *Azospirillum*-based inoculants are used. In the case of popcorn, there are no available studies related to use of inoculation and its response on yield parameters. Thus, the aim of this study was to evaluate the field performance of popcorn when inoculated with the commercial product Masterfix L (*A. brasilense* Ab-V5 and *A. brasilense* Ab-V6) and the non-commercial inoculant UEL (*A. brasilense* Ab-V5 + *Rhizobium* sp. 53GRM1) associated with nitrogen fertilization. The trials were conducted in Londrina and Maringá, Paraná State, Brazil, in a randomized block design with four replications, in a split plot design with the inoculation treatments located in the plots (uninoculated, Masterfix L, and UEL) and the different N rates located in the subplots where ammonium sulphate was applied in the topdressing at the V₆ stage (0, 50, 100, and 150 kg·ha⁻¹). The variance analysis showed significant effects ($p < 0.05$) of inoculation (Londrina environment) and N rates (both environments) only for grain yield. There was no inoculation effect in the grain yield when inoculants were applied together with N-fertilization at topdressing. In the absence of N-fertilization at topdressing, the inoculants Masterfix L and UEL promoted higher grain yield as compared to the uninoculated plants, with resulting increases of 13.21 and 26.61% in yield, respectively.

Key words: *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium* sp., inoculants, grain yield.

*Autor correspondente: leandrosag@uel.br

Received: 27 Jul. 2015 – Accepted: 31 Ago. 2015

INTRODUÇÃO

O uso de fertilizantes químicos, juntamente com o melhoramento genético e o manejo cultural, propiciaram um aumento expressivo na produtividade da cultura do milho (Galvão et al. 2014). Contudo, a dependência da agricultura atual em relação aos fertilizantes químicos é motivo de grande preocupação, em decorrência dos riscos associados ao uso indiscriminado desses insumos, como a eutrofização do solo e águas subterrâneas e emissão de gases de efeito estufa (Chien et al. 2011; Dungait et al. 2012; Marks et al. 2013). Além de problemas ambientais, os fertilizantes químicos participam em mais de 28% dos custos de produção da cultura do milho, segundo dados da CONAB (2015).

Entre as alternativas existentes para aumentar a eficiência do uso de fertilizantes químicos, podendo levar à diminuição da quantidade aplicada em ambientes de produção agrícola, está o uso de inoculantes que contêm bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV). As BPCV compreendem um grupo de microrganismos que podem estimular o crescimento e o desenvolvimento das plantas por meio de mecanismos diretos e/ou indiretos, coexistindo associativamente nas superfícies radiculares, a rizosfera e filosfera, e nos tecidos internos de diferentes espécies vegetais (Hungria et al. 2010). Essas bactérias atuam suprindo diretamente a demanda vegetal por nutrientes (P, K, Fe) e água, através de mecanismos diretos de promoção do crescimento, ou atuando no aumento da resistência e tolerância das plantas contra estresses bióticos e abióticos pela síntese do ácido 1-amino-ciclopropano-1-carboxílico (ACC). Atuam também como agentes de biocontrole e na indução de resistência sistêmica (Hungria et al. 2010; Brattacharyya e Jha 2012; Singh et al. 2013; Bashan et al. 2014).

As BPCV têm sido encontradas em associação com grande número de espécies de cereais e gramíneas forrageiras, tendo uma vasta gama de gêneros descritos, incluindo *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum* e *Azospirillum* (Hungria et al. 2010; Videira et al. 2012). Entre esses gêneros, *Azospirillum* spp. constitui um dos grupos mais bem estudados, sendo diversos os estudos relacionados com a produção de fitormônios que induzem o crescimento radicular e melhoram a absorção de água e nutrientes pelas plantas (Doornbos et al. 2012). Além disso, assim como os rizóbios, as bactérias do gênero *Azospirillum* possuem capacidade de realizar a fixação biológica do nitrogênio atmosférico e, dessa forma, podem

contribuir diretamente para a nutrição nitrogenada de várias espécies não leguminosas, favorecendo o seu crescimento e diminuindo o uso de fertilizantes nitrogenados, sem que ocorram diminuições na produtividade (Hungria et al. 2010; Ferreira et al. 2013).

Com base em diversos estudos, verifica-se que a contribuição do *Azospirillum* para a produtividade do milho tem mostrado resultados contrastantes (Hungria et al. 2010; Ferreira et al. 2013; Repke et al. 2013; Quadros et al. 2014). Repke et al. (2013) verificaram que a aplicação de *A. brasilense* (AZ) via solução nas sementes, acompanhada ou não de doses de nitrogênio sintético, não interferiu no desenvolvimento de plantas e na produtividade da cultura do milho. Por outro lado, Hungria et al. (2010) avaliaram o uso de AZ sobre o milho e encontraram um aumento de 27% na produtividade em relação ao controle sem inoculação. Ferreira et al. (2013), avaliando a resposta do milho à inoculação AZ em solos do Cerrado brasileiro, verificaram incrementos na produtividade de 14,9, 26,7 e 29,4% nos tratamentos P-K + AZ, P-K + AZ + 100 kg de N e P-K + AZ + 200 kg de N, respectivamente, quando comparados com o controle (P-K). Quadros et al. (2014), avaliando a produtividade de três híbridos de milho inoculados com uma mistura de três espécies de *Azospirillum* (*A. brasilense*, *A. lipoferum* e *A. oryzae*), verificaram uma interação entre os híbridos e inoculação, tendo obtido aumento significativo de produtividade apenas para o híbrido P32R48, com incremento 750 kg·ha⁻¹.

A resposta da inoculação pode variar de acordo com o genótipo da planta, estirpe bacteriana, condições ambientais, práticas agrícolas, bem como com a quantidade e qualidade das células de BPCV utilizadas como inoculante (Matsumura et al. 2015). No caso do milho pipoca, pelo melhor conhecimento dos autores, não existem na literatura trabalhos relacionados ao uso de inoculantes contendo BPCV e às respostas sobre o desenvolvimento e a produtividade da cultura. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da inoculação do produto comercial Masterfix L formulado com duas estirpes de *Azospirillum brasilense* (*A. brasilense* Ab-V5 e Ab-V6) e de um inoculante desenvolvido na Universidade Estadual de Londrina (inoculante UEL) formulado com uma estirpe de *Azospirillum brasilense* e uma estirpe de *Rhizobium* sp. (*A. brasilense* Ab-V5 e *Rhizobium* sp. 53GRM1) — sob diferentes níveis de adubação nitrogenada de cobertura — sobre o desempenho agrônomico de milho pipoca. →

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na fazenda da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e na Universidade Estadual de Maringá (UEM) na safra 2014/2015. A fazenda da UEL está localizada no município de Londrina, região norte do Estado do Paraná (coordenadas geográficas: 23°20'32"S; 51°12'32"W; altitude de 550 m). O solo é caracterizado como Latossolo Vermelho eutroférico. A fazenda da UEM está localizada no distrito de Iguatemi, Maringá, região noroeste do Estado do Paraná (coordenadas geográficas: 23°11'S; 52°03'W; altitude de 550 m). O solo é caracterizado como Latossolo Vermelho distroférico. O clima das regiões de Londrina e Iguatemi é do tipo Cfa, de acordo com a classificação de Köppen. Os dados referentes às médias de precipitação pluvial e

temperaturas médias máximas e mínimas, observadas no período experimental, foram obtidos junto à estação meteorológica situada na sede do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) em Londrina (Figura 1).

As características químicas do solo (0 – 20 cm) antes da instalação dos experimentos, Londrina e Maringá, foram: pH (CaCl₂): 5,50 e 4,60; P: 8,55 e 12,89 mg·dm⁻³; K: 1,60 e 0,28 cmol_c·dm⁻³; Ca: 5,30 e 2,45 cmol_c·dm⁻³; Mg: 2,20 e 0,81 cmol_c·dm⁻³; e CTC: 13,38 e 7,51 cmol_c·dm⁻³, respectivamente.

Em cada experimento, o solo foi preparado por meio de aração e gradagem leve e adubado com 300 kg·ha⁻¹ do formulado comercial 08:28:16 na semeadura. Os experimentos foram dispostos em delineamento de blocos casualizados, com 4 repetições, em esquema de parcelas subdivididas, sendo casualizados nas parcelas os inoculantes (sem inoculante;

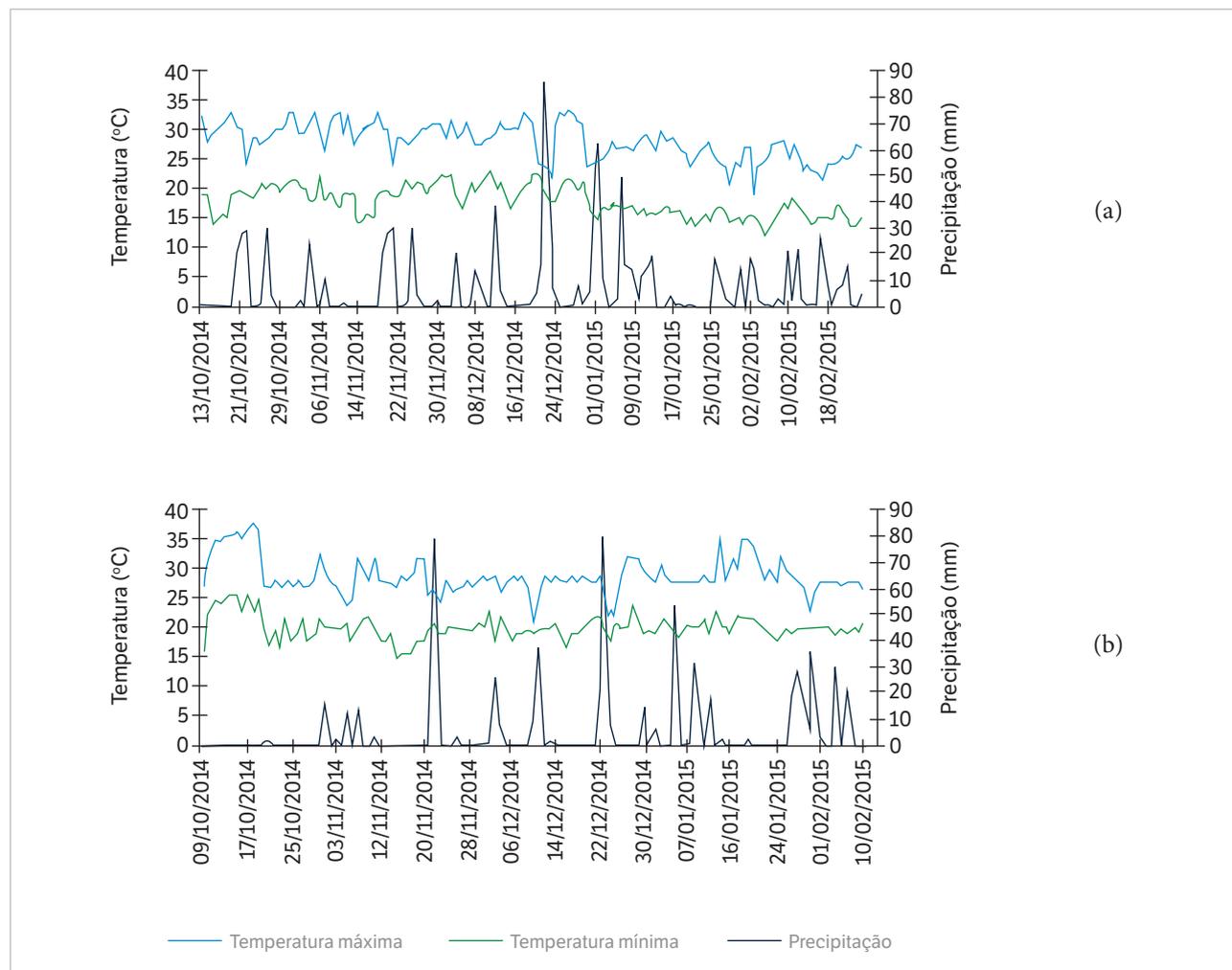


Figura 1. Dados diários de temperaturas máximas e mínimas e de precipitação pluvial durante o período de condução do experimento. (a) Londrina (PR) e (b) Maringá (PR) (2014/2015).

inoculante comercial: Masterfix - *A. brasilense* Abv5 e Abv6; inoculante UEL: *A. brasilense* Abv5 e *Rhizobium* sp. 53GRM1 e, nas subparcelas, as doses de N em cobertura no estágio V₆ utilizando como fonte o sulfato de amônio (0, 50, 100 e 150 kg·ha⁻¹).

Os diferentes inoculantes foram aplicados de forma a disponibilizar a concentração bacteriana de 1×10^6 células por semente. As bactérias utilizadas no inoculante UEL estão depositadas na coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Bioquímica Molecular da Universidade Estadual de Londrina (LBM-UEL). Colônias isoladas de Ab-V5 e 53GRM1 foram crescidas como pré-inóculo em meio líquido Dygs (2 g de glicose; 1,5 g de peptona; 2 g de extrato de levedura; 0,5 g de K₂HPO₄; 0,5 de MgSO₄; e água destilada q.s.p. 1 L, pH 6,0) por 24 horas; em seguida, foram multiplicadas em 250 mL de meio M15 líquido — composição formulada pelo LBM-UEL, em processo de patente no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI; depósito no BR 1020140171746) — e cultivadas por 48 h sob agitação em incubadora orbital (180 rpm a 28 °C). Após esse período, os cultivos foram interrompidos, e a concentração de células foi determinada por contagem em câmara de Neubauer, sendo então realizada a normalização da suspensão de células para 1×10^9 células·mL⁻¹ com diluição em veículo inoculante líquido UEL.

As subparcelas experimentais tiveram dimensões de 3,2 × 4,0 m e constaram de quatro fileiras de 4,0 m de comprimento, tendo como área útil as duas fileiras centrais. O espaçamento entre fileiras foi de 0,8 m. Dentro da fileira, o espaçamento foi de 0,2 m entre covas, o que resultou em 20 covas por fileira, onde foram colocadas 2 sementes por cova do híbrido de milho pipoca IAC 125. A área útil foi constituída pelas duas linhas centrais, eliminando 0,5 m nas extremidades. A semeadura foi realizada manualmente na primeira quinzena de outubro de cada ano. O desbaste foi realizado no estágio V₂, deixando-se uma planta por cova.

Foram avaliadas as variáveis altura de planta (ALTP, em cm), altura de espiga (ALTE, em cm), número de espiga por planta (NEP) e rendimento de grãos (REND, em kg·ha⁻¹). Procedeu-se à análise de variância individual com o objetivo de estimar os resíduos associados às parcelas e subparcelas. As interações significativas entre os fatores foram desdobradas. O fator qualitativo (inoculação) foi submetido à comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) e o quantitativo (níveis de N na cobertura), à análise de regressão linear. A melhor equação ajustada foi escolhida de acordo com o coeficiente

de regressão, testado pelo teste *t* corrigido com base nos resíduos da análise de variância. Os dados foram analisados com auxílio do programa R (<http://www.r-project.org>), utilizando-se o pacote ExpDes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de variância individual, houve efeitos significativos para inoculação e doses de N apenas para rendimento de grãos no ambiente Londrina. No ambiente Maringá, essa diferença também foi detectada para rendimento de grão, contudo, apenas para doses de N. Repke et al. (2013), avaliando dois níveis de *A. brasilense* (sem e com aplicação da solução da bactéria nas sementes), em seis doses de N na cobertura (0, 80, 105, 130, 155 e 180 kg·ha⁻¹), verificaram ausência de efeitos decorrentes da aplicação do inoculante nas sementes de milho e interação inoculante *versus* doses de nitrogênio para todas as variáveis avaliadas. Dartora et al. (2013), avaliando a inoculação das sementes (sem, *A. brasilense* - Abv5, *Herbaspirillum seropedicae* - SmR1 e combinação Abv5 e SmR1) com 5 doses de N (0, 40, 80, 120 e 160 kg·ha⁻¹), verificaram efeitos de inoculação apenas para diâmetro do colmo (fase vegetativa e reprodutiva) e massa seca da parte aérea. Por outro lado, resultados significativos para rendimento de grãos quando inoculados com *A. brasilense* têm sido verificados em diversos trabalhos (Hungria et al. 2010; Ferreira et al. 2013; Quadros et al. 2014).

O desdobramento da interação inoculação *versus* doses de N foi realizado apesar de não ter sido verificado efeito significativo da interação para ambos os experimentos. Segundo Barbin (2013), embora a interação não tenha sido significativa, muitas vezes é aconselhável fazer-se o desdobramento dos graus de liberdade, pois se pode detectar algum efeito significativo que, na média (interação), fica diluído. Pelo desdobramento inoculante *versus* doses de N (0, 50, 100 e 150 kg·ha⁻¹), apenas a ausência de N foi significativa para ambos os experimentos.

Neste experimento, foi possível verificar que a adição de N-fertilizante em cobertura no solo não proporcionou nenhum incremento de produtividade aos tratamentos de inoculação, sugerindo que essas tecnologias são competitivas e não aditivas. De acordo com Carvalho et al. (2014), a eficiência de fixação biológica em bactérias diazotróficas é rapidamente reduzida ou mesmo inibida na presença de alta concentração de componentes de nitrogênio no solo,

especialmente amônio, que pode causar a rápida inibição da atividade da nitrogenase, responsável pela conversão do nitrogênio atmosférico (N_2) à forma aceitável pela planta. Além do controle da atividade da nitrogenase, há evidências de que o teor de N no solo pode também regular a colonização bacteriana.

Oliveira et al. (2003) verificaram que o número de bactérias diazotróficas endofíticas isoladas de tecidos de cana-de-açúcar diminui em plantas que foram adubadas com altas doses de N quando comparado com o número de bactérias em plantas que receberam pequenas doses de fertilizante nitrogenado. A determinação da eficiência de uso de nitrogênio e o balanço desse elemento em condições de inoculação *versus* doses de N-fertilizante são necessários para determinar como a inoculação com bactérias diazotróficas contribui para a nutrição das plantas inoculadas.

Matsumura et al. (2015) avaliaram os efeitos da adubação nitrogenada sobre a diversidade da comunidade total e de

metabólitos ativos de bactérias endofíticas em plantas de milho que foram inoculadas com a *A. brasilense* Ab-V5. Os autores verificaram que o manejo da adubação teve um forte efeito sobre as populações dominantes da comunidade bacteriana metabolicamente ativa, e as bibliotecas de genes 16S rRNA de plantas com nível regular de N sugerem uma menor diversidade de tais populações em comparação com as bibliotecas de plantas com baixo N. Além disso, a combinação de tratamentos com níveis regulares de N e inoculação de planta não teve um efeito aditivo e, sim, uma tendência de diminuição na produtividade.

Na ausência de N de cobertura, verifica-se um efeito significativo dos inoculantes comercial e da UEL sobre o não inoculado para os experimentos Londrina e Maringá (Figura 2). O incremento de rendimento de grãos foi de 9,98 e 16,44% (correspondendo a 367,03 e 604,93 $kg\cdot ha^{-1}$) para inoculante comercial e da UEL, respectivamente, para ambiente Londrina, enquanto, para ambiente Maringá, o

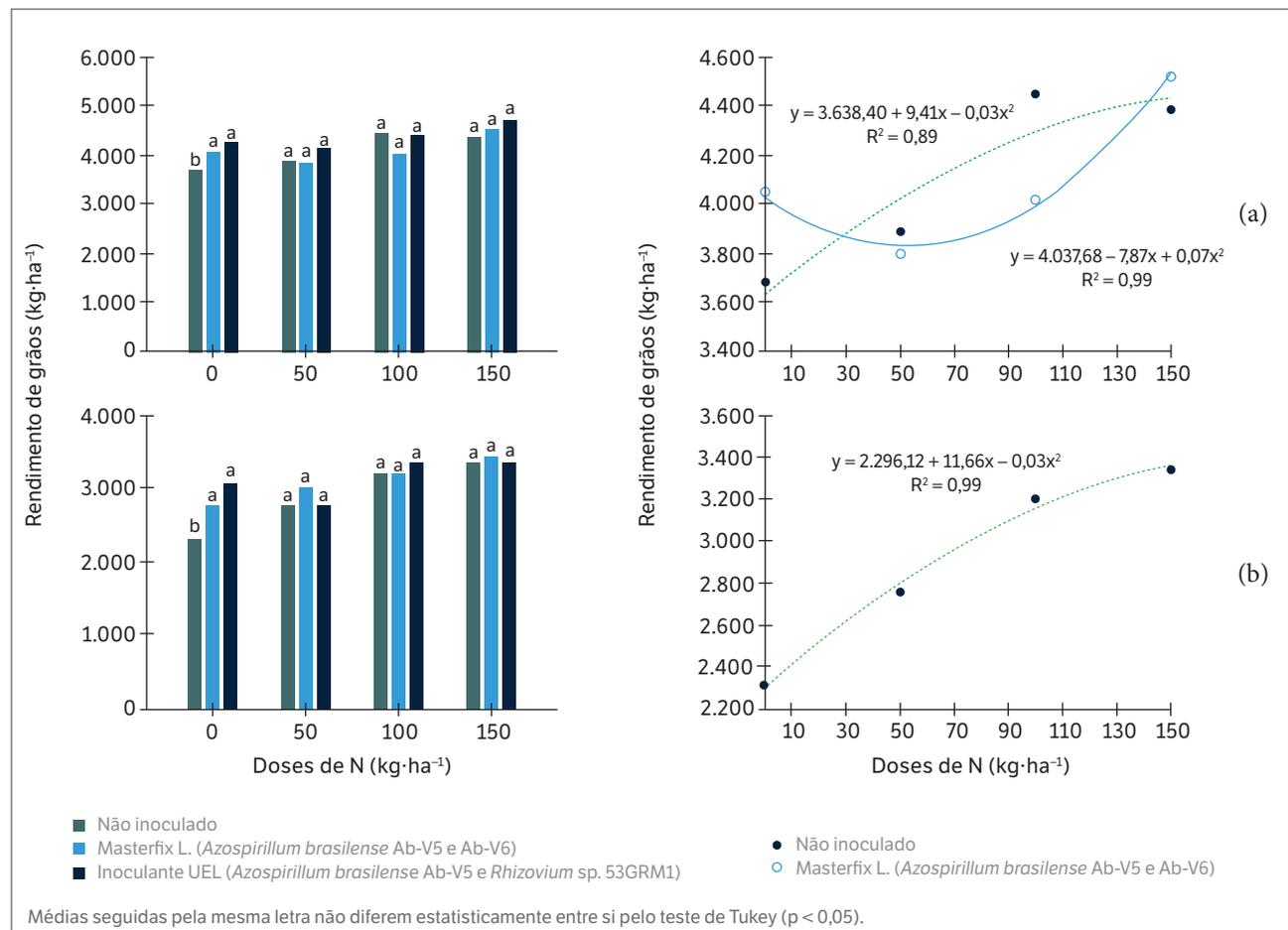


Figura 2. Rendimento de grãos ($kg\cdot ha^{-1}$), de milho pipoca IAC 125, em função de inoculantes em diferentes doses de N, em dois locais (a) Londrina (PR) e (b) Maringá (PR) (2015).

incremento foi de 20,14 e 32,81% (correspondendo a 465,25 e 757,98 kg·ha⁻¹), respectivamente.

A formulação comercial possui duas estirpes de *Azospirillum brasilense* registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso em formulações comerciais (Hungria et al. 2010), enquanto o inoculante da UEL contém a estirpe Ab-V5 de *A. brasilense* (registrada no MAPA) e a estirpe 53GRM1 de *Rhizobium* sp., uma estirpe isolada da rizosfera de milho e sem registro no MAPA. Em adição, as diferenças na composição química são de difícil análise, uma vez que a formulação comercial possui composição tratada como segredo industrial, assim como a formulação inoculante da UEL, que possui pedido de proteção intelectual junto ao INPI (depósito no BR 1020140171746). Segundo Oliveira et al. (2014), diversos fatores influenciam a eficiência na utilização da tecnologia de inoculantes, sendo as formulações um dos fatores principais. Para que se possa formular e produzir comercialmente os inoculantes, é necessária uma integração dos parâmetros físicos, químicos e biológicos nesses produtos, permitindo, assim, a manutenção de elevadas populações do microrganismo-alvo e um maior tempo de sobrevivência em prateleira e no campo.

No desdobramento N *versus* inoculantes (não inoculado, MasterFix L e inoculante UEL), foram detectados efeitos significativos para não inoculado em ambos os experimentos e inoculante MasterFix L para ambiente Londrina. Para não inoculado, em diferentes doses de N, obteve-se resposta quadrática com nível de significância de 1% (Figura 2), em que, de acordo com a função de produção obtida, o rendimento máximo de grãos (4.366,30 e 3.429,08 kg·ha⁻¹) seria teoricamente atingido com aplicação de 156,83 e 194,33 kg·ha⁻¹ de N para os ambientes Londrina e Maringá, respectivamente.

Para inoculante MasterFix L em diferentes doses de N no ambiente Londrina, verifica-se que o menor rendimento de grãos (3.816,47 kg·ha⁻¹) seria teoricamente atingido com aplicação de 56,21 kg·ha⁻¹ de N. Em contrapartida, para as inoculações MasterFix L (no ambiente Maringá) e UEL (nos dois ambientes), em diferentes doses N, verifica-se ausência de significância, ou seja, o aumento das doses de N não influenciaram no aumento do rendimento de grãos.

A inoculação de gramíneas com BPCV vem sendo aplicada adicionalmente ao uso de fertilizantes minerais, sem considerar o aumento na eficiência de uso de

nutrientes resultantes de interações compatíveis entre *Azospirillum* e a planta inoculada, que são principalmente observados em estudos conduzidos na ausência ou sobre doses diminuídas de fertilizantes, principalmente dos nitrogenados (Veresoglou e Menexes 2010). A prática de inoculação com BPCV modifica o ambiente onde a planta se desenvolve, como resultado das interações bioquímicas entre os pares associativos, e acarreta mudanças na expressão gênica da planta inoculada (Amaral et al. 2014).

Partida-Martínez e Heil (2011) apresentam o conceito de custo-benefício nas interações associativas, onde incrementos produtivos resultantes dessas interações somente poderão ocorrer se os microrganismos proporcionarem benefícios que excedam o custo metabólico que a planta assume para a manutenção de elevadas populações microbianas a ela associada. Nesse contexto, a inoculação de plantas com BPCV com ação sobre a nutrição vegetal (facilitando a nutrição nitrogenada, por exemplo) poderá atuar como dreno energético caso o ambiente de cultivo apresente condições de plena nutrição para a planta. Uma vez que BPCV são organismos heterotróficos e demandam energia da planta para se manterem ativos e sob populações elevadas, é mais provável que o resultado de uma inoculação eficiente produza um efeito neutro ou mesmo negativo sobre a produtividade vegetal (Hartmann et al. 2009).

CONCLUSÃO

Na ausência da adubação de cobertura, os inoculantes Masterfix L e UEL foram superiores ao não inoculado, com incrementos médios de produtividade de 13,21 e 26,61%, respectivamente. As doses de N (50, 100 e 150 kg·ha⁻¹) de cobertura não influenciaram no aumento da produtividade do milho pipoca IAC 125 quando inoculado com Masterfix L (no ambiente Maringá) e UEL (nos dois ambientes).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia da Fixação Biológica de Nitrogênio (INCT-FBN), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação Araucária pelo financiamento parcial deste estudo.

REFERÊNCIAS

- Amaral, F. P., Bueno, J. C. F., Hermes, V. S. e Arisi, A. C. M. (2014). Gene expression analysis of maize seedlings (DKB240 variety) inocuated with plant growth promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae*. *Symbiosis*, 62, 41-50. <http://dx.doi.org/10.1007/s13199-014-0270-6>.
- Barbin, D. (2013). Planejamento e análise estatística de experimentos agrônômicos. Londrina: Mecenas.
- Bashan, Y., Bashan, L. E., Prabhu, S. R. e Hernandez, J. B. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant and Soil*, 378, 1-33. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-013-1956-x>.
- Brattacharyya, P. N. e Jha, D. H. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1327-1350. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>.
- Carvalho, T. L. G., Balsemão-Pires, E., Saraiva, R. M., Ferreira, P. C. G. e Hemerly, A. S. (2014). Nitrogen signalling in plant interactions with associative and endophytic diazotrophic bacteria. *Journal of Experimental Botany*, First published online: August 11, 2014, 1-12. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/eru319>.
- Chien, S. H., Prochnow, L. I., Tu, S. e Snyder, C. S. (2011). Agronomic and environmental aspects of phosphate fertilizers varying in source and solubility: an update review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 89, 229-255. <http://dx.doi.org/10.1007/s10705-010-9390-4>.
- Companhia Nacional de Abastecimento (2015); [acesso 2015 Nov 15]. <http://www.conab.gov.br>
- Dartora, J., Guimarães, V. F., Marini, D. e Sander, G. (2013). Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 17, 1023-1029. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662013001000001>.
- Doornbos, R. F., Van Loon, L. C. e Bakker, P. A. H. M. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32, 227-243. <http://dx.doi.org/10.1007/s13593-011-0028-y>.
- Dungait, J. A., Cardenas, L. M., Blackwell, M. S. A., Wu, L., Withers, P. J. A., Chadwick, D. R., Bol, R., Murray, P. J., Macdonald, A. J., Whitmore, A. P. e Goulding, K. W. T. (2012). Advances in the understanding of nutrient dynamics and management in UK agriculture. *Science of the Total Environment*, 434, 39-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.029>.
- Ferreira, A. S., Pires, R. R., Rabelo, P. G., Oliveira, R. C., Luz, J. M. Q. e Brito, C. H. (2013). Implications of *Azospirillum brasilense* inoculation and nutrient addition on maize in soils of the Brazilian Cerrado under greenhouse and field conditions. *Applied Soil Ecology*, 72, 103-108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.05.020>.
- Galvão, J. C. C., Miranda, G. V., Trogello, E. e Fritsche-Neto, R. (2014). Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. *Revista Ceres*, 61, 819-828. <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737x201461000007>.
- Hartmann, A., Schmid, M., van Tuinen, D. e Berg, G. (2009). Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil*, 321, 235-257. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-008-9814-y>.
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M. e Pedrosa, F. O. (2010). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331, 413-425. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0262-0>.
- Marks, B. B., Megías, M., Nogueira, M. A. e Hungria, M. (2013). Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize. *AMB Express*, 3, 21. <http://dx.doi.org/10.1186/2191-0855-3-21>.
- Matsumura, E. E., Secco, V. A., Moreira, R. S., Santos, O. J. P., Hungria, M. e Oliveira, A. L. M. (2015). Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Annals of Microbiology*, First published online: April 01, 2015, 1-14. <http://dx.doi.org/10.1007/s13213-015-1059-4>.
- Oliveira, A. L. M., Canuto, E. L., Reis, V. M. e Baldani, J. I. (2003). Response of micropropagated sugarcane varieties to inoculation with endophytic diazotrophic bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34, 59-61. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822003000500020>.

Oliveira, A. L. M., Costa, K. R., Ferreira, D. C., Milani, K. M. L., Santos, O. J. P., Silva, M. B. e Zuluaga, M. Y. A. (2014). Aplicações da biodiversidade bacteriana do solo para a sustentabilidade da agricultura. *Biochemistry and Biotechnology Reports*, 3, 56-77. <http://dx.doi.org/10.5433/2316-5200.2014v3n1p56>.

Partida-Martínez, L. P. e Heil, M. (2011). The microbe-free planta: fact or artifact? *Frontiers in Plant Science*, 2, 100. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2011.00100>.

Quadros, P. D., Roesch, L. F. W., Silva, P. R. F., Vieira, V. M., Roehrs, D. D. e Camargo, F. A. O. (2014). Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. *Revista Ceres*, 61, 209-218. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2014000200008>.

Repke, R. A., Cruz, S. J. S., Silva, C. J., Figueiredo, P. G. e Bicudo, S. J. (2013). Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada

com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 12, 214-226.

Singh, R. K., Malik, N. e Singh, S. (2013). Impact of rhizobial inoculation and nitrogen utilization in plant growth promotion of maize (*Zea mays* L.). *Bioscience*, 5, 8-14. <http://dx.doi.org/10.13057/nusbiosci/n050102>.

Veresoglou, S. D. e Menexes, G. (2010). 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 and Soil*, 337, 469-480. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-010-0543-7>.

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