

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

ANDRE SILAS LIMA SILVA

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MILHO PELA INOCULAÇÃO E
COINOCULAÇÃO DE *Azospirillum*, *Bacillus* E *Pseudomonas***

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2022

ANDRE SILAS LIMA SILVA

**PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MILHO PELA INOCULAÇÃO E
COINOCULAÇÃO DE *Azospirillum*, *Bacillus* E *Pseudomonas***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Orientador: Prof. Dr. Vandeir Francisco
Guimarães

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2022

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Lima Silva, André Silas
PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM MILHO PELA INOCULAÇÃO E
COINOCULAÇÃO DE Azospirillum, Bacillus E Pseudomonas / André
Silas Lima Silva; orientador Vandeir Francisco Guimarães. -
- Marechal Cândido Rondon, 2022.
44 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido
Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
2022.

1. Zea mays . 2. Bactérias promotoras de crescimento
vegetal. 3. Produtividade. I. Guimarães, Vandeir Francisco ,
orient. II. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



ANDRÉ SILAS LIMA SILVA

Promoção de crescimento em milho pela inoculação e coinoculação de *Azospirillum*,
Bacillus e *Pseudomonas*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em
cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia,
área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Manejo de Culturas,
APROVADA pela seguinte banca examinadora:

Orientador - Vander Francisco Guimarães

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Paulo Sérgio Rabello de Oliveira

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Laercio Augusto Pivetta

Universidade Federal do Paraná - Campus de Palotina (UFPR)

Marechal Cândido Rondon, 12 de setembro de 2022

A meus pais, Paulo Antônio Silva Neto e Cecília Vieira Lima Silva, assim como aos meus irmãos Paulo Lima da Silva e Paula Rita Lima Silva Florêncio, pois sempre estiveram ao meu lado apoiando e me dando exemplo de caráter, além do carinho e apoio para vencer mais essa etapa

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná pela oportunidade de realização do Mestrado em Agronomia. Ao Coordenador Prof. Dr. Neumárcio Vilanova da Costa e a Assistente de Coordenação Leila Dirlene Allievi Werlang pela dedicação especial ao programa. Aos professores pelos conhecimentos transmitidos na vivência acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de pesquisa, e pelos recursos para realização do estudo.

Em especial ao meu Orientador Prof. Dr. Vandeir Francisco Guimarães, por apresentar a pesquisa científica, por orientar com tanta paciência e compreensão. E, principalmente, por ser exemplo de sabedoria e caráter pra mim.

Em especial a Benjamin Oehninger por todo conhecimento transmitido em desenvolvimento pessoal, administração e produção vegetal. Aos auxílios constantes e principalmente, pela grande amizade que se estende por tanto tempo.

Em especial a Adoniran Conrado Oehninger por provocar mudanças significativas em minha vida, sendo um exemplo constante de fé, missão e ética e pelo seu comprometimento.

A Roberto Cecatto Júnior por todo conhecimento transmitido na área de pesquisa e escrita científica com os auxílios constantes e pela grande amizade.

A Edvam de Bonfim, Tauane Santos Brito, Deise Cadornin Vitto pela amizade, conselhos e o auxílio no estudo.

Aos integrantes e amigos do Grupo de Estudos Fisiologia de Plantas Cultivadas no Oeste do Paraná, em especial, Tauane Santos Brito, Deise Cadornin Vitto, Alexandre Wegner Lerner, Roberto Cecatto Júnior, Andriele Shermam e Michele Aline Anklan.

Aos Funcionários do Núcleo de Estação Experimental NEE-Unioeste, em especial a Dirceu Rauber, juntamente com os funcionários das Fazendas Turgal e Cascata em Braganey PR pelo apoio na condução dos experimentos.

À minha família que jamais deixou faltar nada em minha vida. Pelo exemplo de caráter e dedicação em tudo que fazem, jamais deixando dificuldades serem maiores que o sonho de vencer na vida com retidão. Pelo amor e carinho que estão presentes em nosso lar, pela compreensão nas horas difíceis, e mantendo a família unida e feliz.

E irrefutavelmente a Deus, o criador e mantenedor de toda a vida, a razão e significado de nossa existência.

RESUMO

SILVA, Andre Silas Lima. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, setembro 2022. **Promoção de crescimento em milho pela inoculação e coinoculação de *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas*.** Orientador: Dr. Vandeir Francisco Guimarães.

A inoculação e coinoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) tem contribuído para o maior crescimento e produtividade da cultura do milho. Assim, o presente estudo objetivou avaliar respostas da inoculação e coinoculação de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* e *Pseudomonas fluorescens*, na cultura do milho. Para o estudo foram conduzidos dois experimentos em condições de campo, em locais distintos (municípios de Braganey-PR e Entre Rios do Oeste-PR), com delineamento de blocos ao acaso, com 12 tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram: T1- controle (sem inoculação); T2 - *Azospirillum brasilense*; T3 - *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*; T4 - *Pseudomonas fluorescens* ; T5 - *Bacillus licheniformis*; T6 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis*; T7 - *A. brasilense* + *B. licheniformis*; T8 - *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T9 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*; T10 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *P. fluorescens*; T11 - *A. brasilense* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*; T12 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*. Na emissão da inflorescência feminina (R_1) avaliou-se altura da planta, área foliar, massa seca de folhas e massa seca de colmo + bainha, teor relativo de clorofila, teores foliares de N, P e K. Na colheita foram determinados os teores de N, P e K nos grãos, componentes da produção e produtividade. Plantas inoculadas com BPCV apresentaram incremento em altura, massa seca de folhas, massa seca de colmo + bainha, área foliar e incremento nos teores foliares de P e K no experimento realizado em Braganey. No experimento de Entre Rios do Oeste as plantas inoculadas com BPCV apresentaram incremento em altura, massa seca de folhas, área foliar e nos teores foliares de P e K. Nos dois locais estudados as plantas inoculadas apresentaram aumento do teor de P nos grãos, aumento da massa de mil grãos e produtividade, apresentando aumento da massa de mil grãos de 9% a 27% de e produtividade de 11% a 27% em relação ao controle sem inoculação. A inoculação de *A. brasilense*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. megaterium* e *P. fluorescens* de forma isolada ou conjunta, promoveu o maior crescimento das plantas e proporcionou maior produtividade nos dois locais estudados.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; bactérias promotoras de crescimento vegetal; produtividade.

ABSTRACT

SILVA, Andre Silas Lima. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, September 2022. **Growth promotion in maize by inoculation and co-inoculation of *Azospirillum*, *Bacillus* and *Pseudomonas*.** Advisor: Dr. Vandeir Francisco Guimarães.

The inoculation and co-inoculation of plant growth promoting bacteria (BPCV) contributed to the greater growth, development and productivity of the corn crop. Thus, the present study aimed to evaluate inoculation and co-inoculation responses of *Azospirillum brasilense*, *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* and *Pseudomonas fluorescens*, in maize. For the study, two experiments were carried out under field conditions, in different location (municipalities of Braganey-PR and Entre Rios do Oeste-PR) with a randomized block design, with 12 treatments and four replications. The treatments were: T1-Control (no inoculation); T2 - *Azospirillum brasilense*; T3 - *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*; T4 - *Pseudomonas fluorescens* ; T5 - *Bacillus licheniformis*; T6 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis*; T7 - *A. brasilense* + *B. licheniformis*; T8 - *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T9 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*; T10 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *P. fluorescens*; T11 - *A. brasilense* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*; T12 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*. In the emission of female inflorescence (R₁), plant height, leaf area, dry mass of leaves and dry mass of stem + sheath, relative chlorophyll content, leaf contents of N, P and K were evaluated. At harvest, the levels of N, P and K in the grains, components of production and productivity were determined. Plants inoculated with BPCV showed an increase in height, dry mass of leaves, dry mass of stem + sheath, leaf area and increase in leaf P and K contents in the experiment carried out in Braganey. In the Entre Rios do Oeste experiment, the plants inoculated with BPCV showed an increase in height, leaf dry mass, leaf area and leaf P and K contents. In the two studied places, the inoculated plants showed an increase in the P content in the grains, an increase in the thousand-grain mass and productivity, presenting an increase in the thousand-grain mass from 9% to 27% of and productivity from 11% to 27% in relation to the control without inoculation. The inoculation of *A. brasilense*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. megaterium* and *P. fluorescens*, alone or together, promoted greater plant growth and provided greater productivity in the two studied sites.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; plant growth promoting bacteria; productivity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 A CULTURA DO MILHO	12
2.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL.....	12
2.2.1 <i>Azospirillum</i>	13
2.2.2 <i>Bacillus</i>	14
2.2.3 <i>Pseudomonas</i>	15
2.3 REGULAÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL	15
2.3.1 Hormônios promotores de crescimento	16
2.3.2 Solubilização de fosfatos	16
2.4 PLANTAS DE MILHO INOCULADAS COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 LOCAL E DESCRIÇÃO DA AREA EXPERIMENTAL	19
3.3 ANÁLISE QUÍMICA E FÍSICA DA ÁREA.....	21
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	22
3.5 IMPLANTAÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	23
3.6 AVALIAÇÕES.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 ANÁLISES BIOMÉTRICAS, TEOR RELATIVO DE CLOROFILA	26
4.2 TEORES DE NUTRIENTES FOLIARES	29
4.3 TEORES DE NUTRIENTES NOS GRÃOS	31
4.4 COMPONENTES DA PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE.....	32
5 CONCLUSÕES	35
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma cultura que possui enorme importância para o Brasil devido sua múltipla utilização. Em função disso, novas técnicas são estudadas com a finalidade de aumentar sua produtividade de forma sustentável. Nesse sentido, tem-se estudado a inoculação de sementes de milho com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) que estimulam o maior crescimento e produtividade (CASSAN e DIAZ ZORITA, 2016).

Dentre as espécies de bactérias que são estudadas quanto à promoção de crescimento em plantas estão *Azospirillum brasilense*, *Bacillus licheniformis*, *B. megaterium*, *B. subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*, que possuem a capacidade de estimular o crescimento por meio do fornecimento de hormônios vegetais como auxinas, giberelinas, citocininas e redução dos níveis de etileno, além de outras moléculas fundamentais no metabolismo das plantas (GLICK, 2012; CASSAN et al., 2014). Além disso, podem atuar no controle biológico de patógenos, produção de indutores de resistência a estresses, tanto bióticos com abióticos, e aumento da atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (HUNGRIA et al., 2018; ZAREI et al., 2019, MÜLLER et al., 2019, MACHADO et al., 2020).

Em decorrência dos benefícios das BPCVs, as plantas inoculadas podem apresentar maior crescimento da parte aérea e do sistema radicular, resultando exploração de maior volume de solo (CASSAN e DIAZ ZORITA, 2016; MULLER et al., 2020), com maior capacidade de absorção de água e nutrientes (HUNGRIA et al., 2010),

Ainda vale destacar que bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* apresentam a capacidade de secretar ácidos orgânicos, produzir fosfatases ácidas, além de outros mecanismos, que resultam na solubilização e mineralização de fosfato (GLICK, 2012; MENDONÇA et al., 2020). Este fato é importante, considerando que os solos brasileiros têm menor teor e disponibilidade de fósforo, estando este nutriente retido em ligações com ferro e alumínio em solos ácidos, e com íons de cálcio em solos alcalinos (MOREIRA et al., 2010), além da imobilização na matéria orgânica.

Neste contexto, a inoculação de microrganismos capazes de solubilizar fosfatos inorgânicos e sua participação ativa nas transformações do fosforo advindo da decomposição de compostos orgânicos no solo, aumentam a disponibilidade de fósforo para as plantas. Assim, ocorre maior aproveitamento do fertilizante utilizado, bem como do fosforo previamente contido no solo e conseqüentemente causam o aumento do teor de fósforo disponível no solo para absorção pelas plantas inoculadas (LI et al., 2017; AFZAL et al., 2019; PEREIRA et al., 2020).

Em função dos diferentes fatores que estimulam o crescimento das plantas, as bactérias dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas* são capazes de incrementar a produtividade de plantas de milho (PICAZEVICZ, 2019). Portanto, a hipótese do presente trabalho é que plantas de milho inoculadas com estas BPCVs, de forma isolada ou em coinoculação, apresentam maior crescimento e produtividade.

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi investigar alterações em variáveis morfológicas, teores de N, P e K, componentes da produção e produtividade de plantas de milho submetidas à inoculação e coinoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) é originário de regiões andinas da América do Sul, a partir do teosinto, há cerca de cinco a dez mil anos. Foi amplamente explorado pelas populações originárias deste continente (MATSUOKA et al., 2002, ABBO; LEV-YADUN; GOPHER, 2010).

O milho é um cereal de destaque na produção brasileira e mundial. É o cereal mais produzido no mundo, seguido pelo trigo e o arroz (FAO 2020) e o mais produzido no Brasil (CONAB, 2022). De acordo com dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), estima-se que 21,66 milhões de ha foram cultivados com a cultura na safra 2021/2022, com produtividade média de 5.319 kg⁻¹ e produção de 115,22 milhões de toneladas. Segundo a CONAB, 2022, houve incremento de 8,6%, 21,8%, 32,3%, respectivamente em área plantada, produtividade e produção de milho em comparação com à safra anterior.

A cultura do milho possui elevada importância econômica, devido seu elevado potencial produtivo (RANUM; PEÑA-ROSAS; GARCIA-CASAL, 2014; SERAGUZI et al., 2016) e pela sua relevância quanto à abundância de formas de utilização. Esta amplitude é alcançada pelo seu emprego em inúmeros produtos, variando desde a alimentação humana e animal, até a indústria de alta tecnologia (ABIMILHO, 2021, CONTINI et al., 2019). Também apresenta elevado valor nutricional de seus grãos (SERAGUZI et al., 2016).

O milho é uma Poaceae anual, com metabolismo C4 apresenta ampla adaptação a diferentes condições ambientais. A cultura é responsiva a altas temperaturas, variando entre 24 e 30°C, influenciando no acúmulo de graus-dias, além de elevada exigência hídrica (média 600 mm), principalmente no estágio de florescimento, essencial para seu desenvolvimento pleno (MAGALHÃES; DURÃES, 2006). O milho é fonte para diversas áreas desde a alimentação humana e animal até a produção de combustível (MIRANDA et al, 2021). O milho é a base da alimentação para aves, suínos e bovinos, sendo empregado extensamente na formulação de rações, devido ao potencial energético, sendo essencial para as atividades agropecuárias (MIRANDA et al, 2021).

2.2 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) englobam grupos de microrganismos que habitam a rizosfera ou qualquer parte da planta sem provocar prejuízos ao seu hospedeiro e que desenvolvem mecanismos que incrementam o crescimento das plantas

(PIETERSE; DE JONGE; BERENDSEN, 2016; BASU; RABARA; NEGI, 2017). A promoção de crescimento vegetal consiste na maneira como as bactérias atuam no organismo vegetal influenciando fatores relacionados ao desenvolvimento vegetal e elevando o potencial produtivo destes vegetais (HUNGRIA, 2011; LOPES et al., 2021).

A utilização das BPCVs, no Brasil, iniciou na década de 1950 com o estudo de bactérias fixadoras de nitrogênio associadas à rizosfera de poáceas. Esses estudos iniciais abriram caminhos para diferentes linhas de pesquisa na área de promoção de crescimento vegetal (DOBEREINER, 1966). A partir destes estudos ocorreram descobertas relacionadas com características adicionais desses microrganismos, demonstrando que a fixação biológica de nitrogênio é apenas um dos mecanismos de promoção de crescimento (FUKAMI; CEREZINI; HUNGRIA, 2018; IKEDA et al., 2020; MORETTI et al., 2020).

As BPCVs promovem o crescimento vegetal por diferentes mecanismos, entre eles a capacidade de facilitar a absorção de nutrientes pelas plantas (ROTARU; RISNOVEANU, 2019; OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2020), atua no controle biológico (VERMA; WHITE, 2018), na proteção das plantas com indução na produção de ácidos salicílico e jasmônico (DAR et al., 2015), redução dos níveis de etileno e redução do efeito de estresse oxidativo (FUKAMI; CEREZINI; HUNGRIA, 2018; SARKAR et al., 2018; HARMAN) auxiliando a produção de enzimas antioxidantes (BULEGON; GUIMARÃES; LAURETH, 2016), maior crescimento do sistema radicular com a produção de ácido indolacético (PUENTE et al., 2019; SHEN et al., 2019; VALDEZ-NUÑEZ et al., 2019; PURI; PADDA; CHANWAY, 2020); atua na produção de sideróforos (ZAREI et al., 2019; KOUR et al., 2020) e no aumento da produtividade (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2016; PATEL; ARCHANA, 2017).

Desta forma, as bactérias *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas* ao possuir diferentes mecanismos que estimulam o crescimento das plantas são capazes de incrementar a produção das plantas de milho (PICAZEVICZ, 2019).

2.2.1 *Azospirillum*

O gênero *Azospirillum* engloba diversas espécies de bactérias que se associam com espécies vegetais. As bactérias do gênero *Azospirillum* são gram-negativas, preferencialmente aeróbias que usam ácidos orgânicos e pentoses como fontes de carbono e amônio, nitrito, nitrato, aminoácidos e nitrogênio molecular, como fonte de nitrogênio (CASSAN et al., 2014).

O *Azospirillum brasilense* é a espécie promotora de crescimento vegetal mais estudada do gênero *Azospirillum* (MENDONÇA et al., 2020), em função do seu grande potencial de estimular o crescimento e produção vegetal (FUKAMI et al., 2016; LÓPEZ; HERRERA, 2017).

A espécie apresenta elevado potencial de estimular o maior crescimento e produção vegetal em decorrência da sua capacidade de colonizar tanto a parte interna quanto externa das plantas, fornecimento de hormônios vegetais como auxinas (MASCIARELLI et al., 2013), giberelinas (GLICK, 2012) e citocininas (CASSAN et al., 2014) e adaptação ambiental (HUNGRIA et al., 2018).

A capacidade de colonizar espécies vegetais de pastagens e cereais de clima tropical vem sendo a principal fonte de estudo para a espécie, em especial sua associação com a cultura do milho (LÓPEZ; HERRERA, 2017). Devido a característica de colonizar tanto a parte interna quanto externa da raiz, além de outros órgãos vegetais, essa bactéria tem se destacado devido a eficiente promoção de crescimento, em especial em situações de estresse (SILVEIRA et al., 2019; SOUZA et al., 2019; ZAHEER et al., 2019; NARAYANASAMY et al., 2020) e atualmente os estudos têm se estendido para a inoculação nas culturas do feijão e soja (BULEGON et al., 2017; CHIBEBBA et al., 2020; RONDINA et al., 2020).

2.2.2 *Bacillus*

O gênero *Bacillus* compreende bactérias gram-positivas que têm como fonte de energia compostos químicos, são capazes de produzir endósporos resistentes ao calor, e exercem considerável significância na produção de ácido indol-acético, amônia, sideróforos, apresentam capacidade de realizar o controle biológico de patógenos, atuando tanto sobre patógenos foliares quanto radiculares e a significativa capacidade de solubilização de fosfato, (KUAN et al., 2016; RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019).

As estirpes de *Bacillus* produzem sideróforos capazes de solubilizar fosfatos de formas menos solúveis do fosforo (SANTOS et al., 2018). A solubilização de fósforo possui papel importante na nutrição vegetal (RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019), já que parte do fósforo no solo encontra-se imobilizado nas formas inorgânicas com cálcio, ferro e alumínio, ou em formas orgânicas (LI et al., 2017).

Além de atuar na solubilização do fósforo, as BPCVs também apresentam outros mecanismos que auxiliam no crescimento de plantas, dentre eles, a produção de hormônios vegetais, enzimas e proteção contra patógenos e a expansão radicular (LOPES et al., 2021; FERREIRA et al., 2022). Esses mecanismos que promovem o desenvolvimento radicular são

responsáveis por aumentar a área de solo explorada, impactando diretamente na absorção de água e nutrientes (BATISTA et al., 2018; FERREIRA et al., 2022).

Desta forma, as bactérias do gênero *Bacillus* ao proporcionar maior disponibilidade de fósforo na solução do solo, ação antibiótica e antifúngica, estimulam o maior crescimento e desenvolvimento das raízes das plantas, resultando, conseqüentemente, no aumento da produção (MENDES et al., 2014; LI et al., 2015; AFZAL et al., 2017).

O *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis* são capazes de produzir endósporos resistentes ao calor, apresentam facilidade de manuseio e versatilidade de aplicação, essas características favorecem a fabricação de inoculantes, podendo ser misturados com outros defensivos agrícolas (RADHAKRISHNAN; HASHEM; ABD ALLAH, 2017).

2.2.3 *Pseudomonas*

As bactérias do gênero *Pseudomonas* são bacilos gram-negativos aeróbios, não esporulados, com habilidades de colonizar diferentes ambientes, versatilidade nutricional e locomoção no solo (SANTOS et al., 2018).

A *Pseudomonas fluorescens* é a espécie que se destaca na promoção de crescimento vegetal devido à grande capacidade de solubilização de fosfatos, consequência da produção de ácidos orgânicos, os quais atuam sobre o pH do solo, bem como de fosfatases, que são enzimas hidrolases capazes de romper as ligações éster e liberar os grupos fosfato de matéria orgânica para absorção pelas raízes das plantas (ZHANG et al. 2017; SANTOS et al., 2018).

Cepas de *P. fluorescens* tem capacidade de estimular indiretamente o crescimento de plantas devido à produção de 2,4-DAPG, que aumenta o efeito da coinoculação com *A. brasilense* (MENDONÇA et al., 2020). Essas Bactérias apresentam a capacidade de realizar o controle biológico, com a produção de enzimas hidrolíticas e cianeto de hidrogênio, capazes de degradar as paredes celulares de alguns microrganismos (ZHANG et al. 2017).

A produção de inoculantes à base de *P. fluorescens* apresenta-se como uma alternativa para reduzir custos e diminuir os riscos ambientais causados pela utilização inadequada e em excesso de fertilizantes e defensivos (COELHO et al., 2007). No entanto, a formulação para uso comercial de inoculante a base de *P. fluorescens* torna-se limitada pelo fato desta espécie não produzir esporos de resistência (MENDONÇA et al., 2020).

2.3 REGULAÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL

2.3.1 Hormônios promotores de crescimento

As plantas ajustam a produção endógena de hormônios vegetais ao longo do seu desenvolvimento, com a finalidade de adaptar-se as fases de desenvolvimento e a situações de estresse (TAIZ et al., 2017). As BCPVs utilizam essa estratégia, induzindo a produção e influenciando os níveis e o equilíbrio hormonal das plantas, principalmente em situações de estresse (GLICK, 2012; MENDONÇA et al., 2020).

Dentre as espécies de bactérias que são estudadas quanto à promoção de crescimento em plantas estão *Azospirillum brasilense*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens*, que possuem a capacidade de estimular o crescimento por meio do fornecimento de hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas (ZAREI et al., 2019, MÜLLER et al., 2019, MACHADO et al., 2020).

A produção de hormônios vegetais por BCPVs é liderada pelas auxinas (AMIN; LATIF, 2017; PUENTE et al., 2018). Contudo, também há contribuições pela produção de giberelinas (GLICK, 2012; FUKAMI et al., 2017) e citocininas (CASSAN et al., 2014; CASSAN e DIAZ ZORITA, 2016;). Em balanço adequado, estes três hormônios promovem o desenvolvimento vegetal (CATO et al., 2013) otimizando a divisão celular por meio das citocininas (HUNGRIA et al., 2018), maior diferenciação celular (SORCE et al., 2013) e afrouxamento de paredes celulares (PUENTE et al., 2018) pelas auxinas. Estas ações são complementadas pela atuação das giberelinas na redução do potencial osmótico e entrada de água para expansão celular (PUENTE et al., 2018).

2.3.2 Solubilização de fosfatos

O fósforo quando em baixa disponibilidade limita o desenvolvimento e crescimento vegetal (KHAN et al., 2018), devido à sua atuação junto ao metabolismo energético e sua importância no mecanismo genético das células (TAIZ et al., 2017).

Na solução do solo, o fósforo pode ser encontrado em forma de H_3PO_4 , H_2PO^- , HPO^{-2} e PO^{-3} , as concentrações desses íons dependentes do pH. Na grande maioria dos solos brasileiros apresentam concentrações de fósforo insuficientes para manter o potencial produtivo das culturas agrícolas. A baixa disponibilidade de fósforo para plantas é devida sua reatividade e alta taxa de retenção de seus íons, pelos constituintes do solo (NOVAIS et al., 2007)

A baixa disponibilidade do fósforo nos solos brasileiros está relacionada à mineralogia e aos fatores químicos do solo, favorecendo retenção dos íons de fósforo nos constituintes sólidos do solo, principalmente, óxidos de Fe e Al, diminuindo os níveis de fósforo na solução

do solo (NOVAIS et al., 2007). O fósforo presente na fase sólida do solo é classificado como lábil, não lábil. O fósforo pode ser fósforo orgânico (fosfatos de inositol, os fosfolipídios, e os ácidos nucleicos) e fósforo inorgânico, (fosfatos minerais insolúveis e ânions fosfatos adsorvidos a hidróxidos de Fe e Al, silicatos de Al e carbonatos de Ca) (MARTIN et al., 2004).

Os processos de solubilização e mineralização do fósforo a partir de formas pouco disponíveis de fósforo inorgânico e orgânico incluem processos de excreção de ácidos e de enzimas (BIELESKI, 1973). Os microrganismos do solo desempenham papel fundamental nos processos de solubilização desse elemento excretando ácidos orgânicos e seus prótons, que atuam dissolvendo diretamente o material fosfático, ou quelando os cátions que acompanham o ânion fosfato. Dentre esses ácidos, destacam-se os ácidos láctico, glicólico, cítrico, málico, oxálico, succínico. A mineralização do fósforo ocorre pela ação de microrganismos produtores de enzimas denominadas fosfatases e fitases, que catalizam a hidrólise de ésteres e anidridos de H_3PO_4 . Assim o fósforo é liberado de forma imediata para a solução solo, disponível para as plantas (MENDES et al., 2014; LI et al., 2015; GROBELAK et al., 2015; AFZAL et al., 2017)

As espécies vegetais favorecem populações de microrganismos solubilizadores de fosfato (SANTOS et al., 2018), os quais, quando aplicados ao solo por meio de formulações simples ou misturas de inoculantes, contribuem positivamente para a nutrição vegetal e crescimento das plantas (RAMAKRISHNA et al., 2019). Deste modo, a capacidade de solubilização de fosfatos dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas*, colabora para o crescimento vegetal devido à maior disponibilização de fósforo (PUENTE et al., 2018; SANTOS et al., 2018; PEREIRA et al., 2020), elemento com primordial importância no desenvolvimento das plantas (VALDEZ-NUÑEZ et al., 2019; PURI; PADDA; CHANWAY, 2020).

2.4 PLANTAS DE MILHO INOCULADAS COM BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

As plantas milho ao possuir a capacidade de associar-se com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BCPVs) são beneficiadas (SARKAR et al., 2018; ZAREI et al., 2019). Os benefícios oriundos da associação com BCPVs estão relacionados principalmente ao fornecimento de hormônios vegetais (HUNGRIA et al., 2018). No entanto, os benefícios também são resultantes da solubilização ou mineralização de fosfatos RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019), controle de patógenos (GARCIA et al 2015), indução de resistência (CASTILLO et al., 2015), promoção de maior absorção pelas raízes de nutrientes (SHAO et al.,

2015) e mitigação dos efeitos negativos da exposição a condições de estresse (FUKAMI; CEREZINI; HUNGRIA, 2018).

Nesse sentido, Brito et al. (2021) estudaram os efeitos da inoculação, via semente e foliar, de *Azospirillum brasilense* no crescimento de plantas de milho. Os autores constaram que a inoculação *A. brasilense*, seja via semente ou foliar, proporciona incrementos ao diâmetro de colmo, massa seca de folhas, volume de radicular e causa aumento dos teores de nutrientes foliares. Pedrosa et al. (2019) ao estudarem os efeitos da inoculação de *A. brasilense*, estirpes AbV5 e HM053, em associação com doses de nitrogênio na cultura do milho, constaram incrementos na produção das plantas inoculadas independentemente da dose de nitrogênio. Para os autores a inoculação destes microrganismos consiste numa importante técnica para produção sustentável.

A eficiência da inoculação de *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis* associada com diferentes doses de adubações fosfatadas em quatro locais distintos foi estudada por Guimaraes et al. (2022). Os autores observaram que as plantas com 50% da dose de fósforo recomendada e inoculadas com *B. megaterium* e *B. subtilis* obtiveram produtividade semelhante das plantas que receberam 100% dose de fósforo recomendada para a cultura. Esses resultados indicam a capacidade de solubilização de fosfatos inorgânicos e capacidade de mineralização de fosfatos orgânicos desses microrganismos que proporciona maior disponibilidade de fósforo para as plantas inoculadas.

Os estudos da inoculação de BCPVs na cultura do milho demonstram que plantas inoculadas apresentam maiores teores foliares de nitrogênio e fósforo (BOMFIM et al., 2020; PEREIRA et al., 2020). Além disso, as plantas inoculadas também apresentam maior teor relativo de clorofila (FERREIRA et al., 2022), maior massa seca (CASSAN et al., 2016) e incremento dos componentes de produção (GARCIA et al., 2017) e produtividade da cultura (MACHADO et al., 2020).

Desta forma, bactérias promotoras de crescimento vegetal dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas* são parte de um pacote tecnológico sustentável que possibilitam maior crescimento e produtividade da cultura do milho com menor uso de fertilizantes químicos (PICAZEVICZ, 2019).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL E DESCRIÇÃO DA AREA EXPERIMENTAL

O estudo foi realizado a campo com a implantação de dois experimentos cultivados simultaneamente em locais distintos, sendo um experimento implantado na Fazenda Turgal pertencente a Benjamin Oehninger, localizada no município de Braganey – PR, na longitude de 53° 00'06,34" Oeste e latitude de 24°44' 50,64" Sul, com altitude de 620 metros, e o segundo experimento foi implantado na Estação Experimental “Professor Alcibíades Luiz Orlando”, pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) – Campus de Marechal Cândido Rondon PR, localizada no município de Entre Rios do Oeste – PR, na longitude de 54° 16'55.27" Oeste e latitude de 24°40' 50.86" Sul, com altitude de 250 metros. O clima dos dois locais conforme a classificação de Köppen é definido como Cfa - Clima subtropical úmido, com temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, com verões quentes, geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, sem estação seca definida (CAVIGLIONE et al., 2000).

Os dados meteorológicos de precipitação e temperatura, durante a condução dos experimentos são apresentados na figura 1 (Braganey – PR) e figura 2 (Entre Rios do Oeste – PR). O volume hídrico durante o ciclo de cultivo, foi de 600 mm de água em Braganey e 770 mm em Entre Rios do Oeste.

Albuquerque (2010) afirma que no Brasil, as exigências hídricas do milho são em média 600 mm durante o ciclo da cultura, dependendo das condições ambientais. O autor afirma que o período de máxima exigência de água pelo milho é nos estádios fenológicos R₁ e R₂. Por isso, deficiências hídricas que ocorrem nesse período são os que provocam maiores reduções de produtividade. No experimento em Braganey foi observado disponibilidade de água abaixo do necessário para a cultura nos estádios fenológicos R₂ e R₃ devido a distribuição irregular das chuvas. No experimento em Entre rios do Oeste a restrição hídrica foi menor devido a melhor distribuição das chuvas.

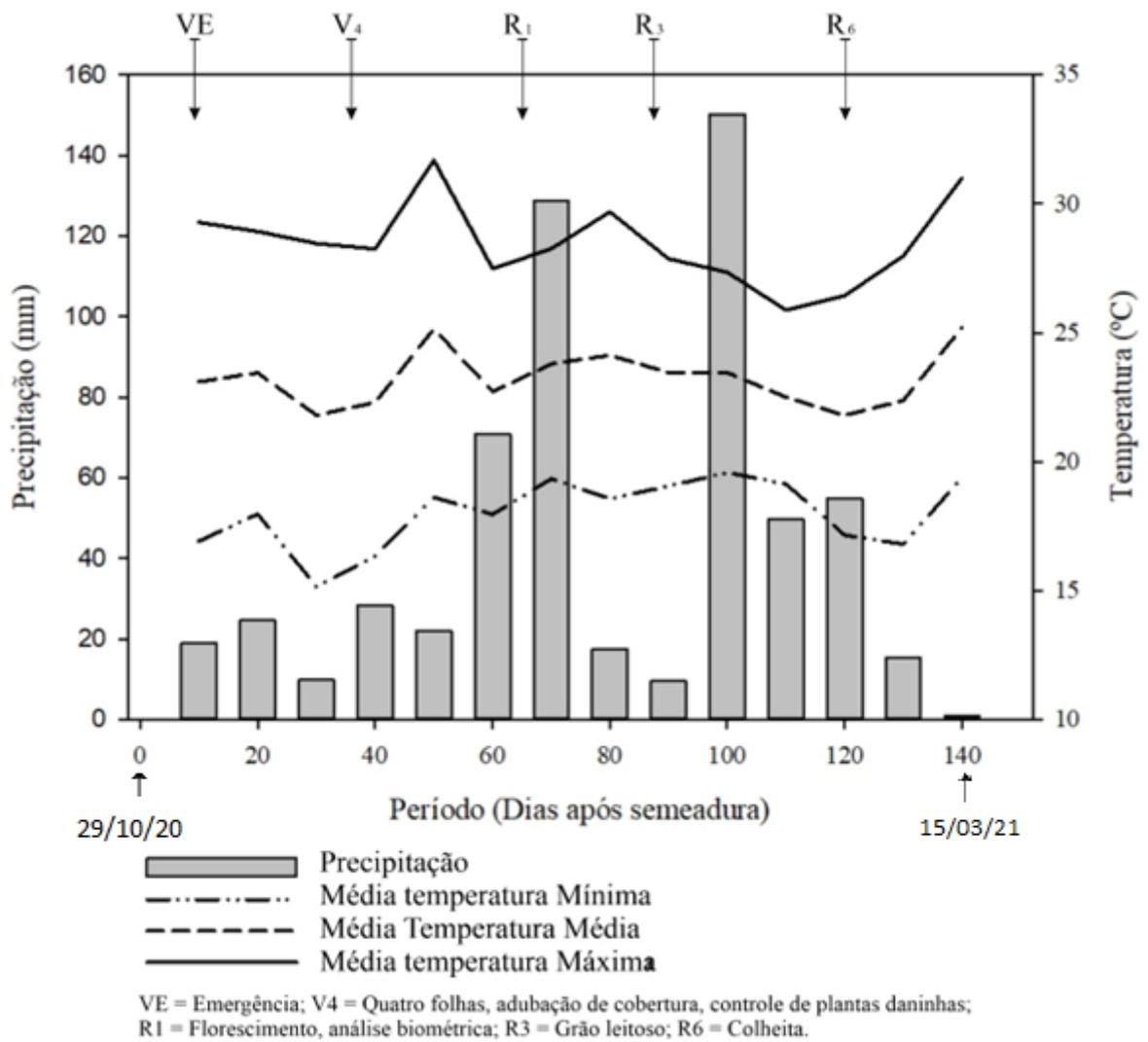


Figura 1. Médias dos decêndios de Temperatura mínima, média e máxima, precipitações pluviométricas durante o período do experimento em Braganey.

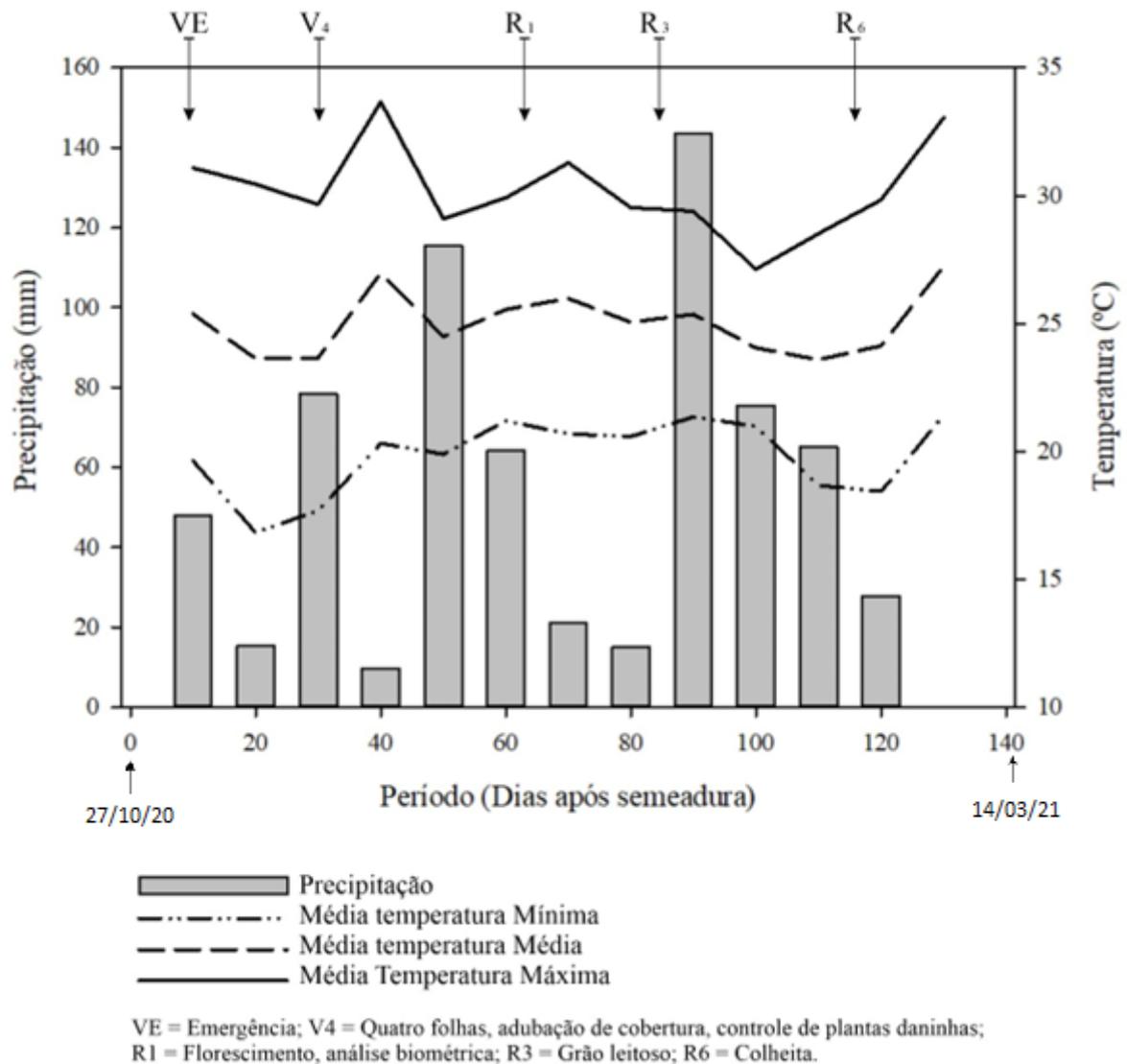


Figura 2. Médias dos decêndios de Temperatura mínima, média e máxima, precipitações pluviométricas durante o período do experimento em Entre Rios do Oeste.

3.3 ANÁLISE QUÍMICA E FÍSICA DA ÁREA

O solo das áreas experimentais dos municípios de Braganey e Entre Rios do Oeste é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico de textura muito argilosa (SANTOS et al., 2018). As análises químicas e granulométricas das amostras de solo referente a profundidade 0-20 cm solo foram realizadas no Laboratório PrimorLab localizado na cidade de Assis Chateaubriand - PR e estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Características químicas e granulométricas do solo coletado na camada de 0 – 20 cm proveniente de Braganey - PR Entre Rios do Oeste -PR, 2020/2021.

Braganey PR										
Características químicas										
pH	P	MO	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC	V
CaCl ₂	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	-----cmol _c dm ⁻³ -----							%
4,69	18,94	26,20	4,48	2,34	0,73	0,21	5,82	7,54	13,36	56,47
Características Texturais										
Areia			Silte				Argila			
----- g Kg ⁻¹ -----										
125			275				600			
Entre Rios do Oeste										
Características químicas										
pH	P	MO	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC	V
CaCl ₂	mg dm ⁻³	g dm ⁻³	-----cmol _c dm ⁻³ -----							%
5,65	27,72	42,91	7,99	3,69	0,71	0,15	3,59	12,38	15,97	77,5
Características Texturais										
Areia			Silte				Argila			
----- g Kg ⁻¹ -----										
120			250				630			

(P, K,) Extrator Mehlich⁻¹;(Al, Ca, Mg) Extrator KCl 1 mol l⁻¹; (H+Al) pH SMP (7,5); (pH) Extrator CaCl₂ 0,01 mol l⁻¹. Análise realizada no Laboratório PrimorLab localizado na cidade de Assis Chateaubriand, PR. Fonte: Autores.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi conduzido com dois experimentos a campo sob delineamento de blocos casualidades com quatro repetições com os seguintes tratamentos: T1- controle (sem inoculação); T2 - *Azospirillum brasilense*; T3 - *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*; T4 - *Pseudomonas fluorescens* ; T5 - *Bacillus licheniformis*; T6 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis*; T7 - *A. brasilense* + *B. licheniformis*; T8 - *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T9 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*; T10 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *P. fluorescens*; T11 - *A. brasilense* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*; T12 - *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*. O delineamento e tratamentos foram idênticos para os dois experimentos

3.5 IMPLANTAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos foram implantados no dia 27 de outubro de 2020 em Entre Rios do Oeste, em sistema de semeadura direta sobre palhada de aveia com massa seca remanescente de 3.500 kg ha⁻¹ e no dia 29 de outubro de 2020 em Braganey PR, sobre palhada de trigo com massa seca remanescente de 3.000 kg ha⁻¹, sendo constituídos por 48 unidades experimentais cada experimento. A unidade experimental foi composta por 9 linhas de plantio com 10 m de comprimento, espaçadas por 0,5 m, totalizando 45 m² de área. A parcela útil compôs-se pelas cinco linhas centrais das unidades experimentais, com 6 m de comprimento, totalizando 18 m² de área útil.

Para o estudo foi utilizado a cultivar de milho da Pioneer 30F53® VYHR híbrido simples com tecnologia Leptra® de proteção contra insetos e com gene Roundup Ready™, a cultivar apresenta elevado potencial produtivo com ciclo precoce. Para o estudo foi estabelecida população final de 60 mil plantas ha⁻¹.

Para realização dos tratamentos com a inoculação das sementes foram utilizados três inoculantes comerciais, sendo eles; Nitro1000® Gramíneas composto por *Azospirillum brasilense*, estirpes AbV5 e AbV6, com concentração de 2,0x10⁸ células viáveis ml⁻¹; BiomaPhos® composto por *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084 (BRM034840)) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119 (BRM033112)) com garantia de 4x10⁹ células viáveis ml⁻¹; FertiBio® composto por *Pseudomonas fluorescens* com concentração de 2,0 x 10⁸ células viáveis ml⁻¹; BioPrince® composto por *Bacillus licheniformis* (CNPSO 3204), com concentração de 2,0 x 10⁸ células viáveis ml⁻¹. A dose para todos os inoculantes utilizados foi de 100 ml de inoculante comercial para cada 60 mil sementes.

A inoculação das bactérias promotoras de crescimento vegetal foi efetuada em sacos plásticos com dose conforme a definição de cada tratamento. Após a inoculação foi realizada homogeneização das sementes junto ao inoculante, manualmente durante três minutos, 30 minutos antes da semeadura.

Para a realização da adubação utilizou-se uma semeadora de mecânica regulada para distribuição de 320 kg ha⁻¹ do adubo formulado 10-15-15 NPK, posteriormente a sementes foram plantadas com semeadora manual para um maior controle da população final de plantas. Para a adubação nitrogenada em cobertura, utilizou-se úreia (45% N) fornecido no estágio V₄ na dose de 200 kg ha⁻¹ de N nos dois experimentos

A cultura foi constantemente monitorada, sendo necessário a realização do controle de plantas daninhas com glifosato ($1,0 \text{ Kg ha}^{-1} \text{ i.a.}$) no, e o controle de percevejo no estágio inicial com Tiametoxam ($36 \text{ g ha}^{-1} \text{ de i.a.}$) + Lambda-Cialotrina ($26,5 \text{ g ha}^{-1} \text{ de i.a.}$), não sendo necessário o controle de lagartas visto a tecnologia Leptra® do híbrido.

3.6 AVALIAÇÕES

As avaliações biométricas foram realizadas no momento em que as plantas de milho atingiram o estágio fenológico (R_1). Procedeu-se com a coleta aleatória de três plantas dentro da área útil da parcela e posterior determinação da altura de planta (AP), compreendida entre a base do colmo ao ápice do pendão das plantas, expressa em centímetros (cm). Também foi determinado o teor relativo de clorofila (índice SPAD) com auxílio do aparelho portátil SPAD502-Plus Konica Minolta. As medidas foram realizadas no terço médio da folha oposta e acima da espiga de cinco plantas escolhidas aleatoriamente dentro da parcela útil.

Em seguida as plantas foram seccionadas em colmo + bainha e folhas e acondicionadas em sacos de papel Kraft e seca em estufa de circulação de ar forçada a $65 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ até atingir massa constante, quando estas amostras foram pesadas em balança analítica para obtenção da massa seca de folhas (MSF) e massa seca de colmo + bainha (MSCB). Além disso, também foi determinada a área foliar (AF) por meio da técnica da área foliar conhecida por meio da determinação da massa seca de quatro anéis de 25 cm^2 provenientes de folhas distintas, e relacionadas matematicamente com a massa seca de folhas.

Para a determinação dos teores foliares dos macronutrientes nitrogênio, fósforo e potássio realizou-se a coleta da folha oposta e abaixo da espiga de 10 plantas na área útil da parcela no estágio fenológico R_1 , utilizando o terço médio das folhas sem a nervura central. As folhas foram secas a 65°C em estufa de circulação de ar forçado até atingir massa constante, em seguida as amostras foram moídas em moinho faca, amostras foram encaminhadas para realização de análise no Laboratório de Fertilidade do Solo, do Curso de Agronomia da UNIOESTE – Campus Marechal Candido Rondon (LANA et al., 2016).

Para a determinação dos componentes da produção, produtividade e macronutrientes nos grãos, foi realizada a colheita manual das espigas contidas dentro da área útil da parcela.

Para determinação das variáveis nas espigas foram separadas dez espigas aleatoriamente dentro das colhidas na parcela útil, determinando-se assim o número de fileiras por espiga (NF), número de grãos por fileira (NGF), pela contagem manual nas espigas.

As espigas foram submetidas a trilha mecânica para determinação da massa de mil grãos e produtividade em Kg ha^{-1} . Para determinação da massa de mil grãos foi utilizado a metodologia das Regra para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para produtividade, realizou-se a pesagem do total de grãos e posteriormente realizou-se a correção da umidade da produção à 13%, para isso foi coletada uma amostra do produto bruto de cada parcela e pesada em balança analítica de precisão, levadas à estufa de circulação forçada de ar à 105°C até massa constante. Depois deste período as amostras foram pesadas novamente e aplicadas a correção (MARCOS FILHO, 2015).

Para determinar os macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) nos grãos, foi separada uma amostra representativa da massa total de grãos colhidos da parcela útil. As amostras foram moídas em moinho faca e encaminhadas para realização de análise no Laboratório de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas, do Departamento de Agronomia da UNIOESTE – *Campus* Marechal Candido Rondon, (LANA et al., 2016).

Os dados foram submetidos à análise de variância e quando pertinente comparados pelo teste de Duncan ambos a 5% probabilidade de erro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES BIOMÉTRICAS, TEOR RELATIVO DE CLOROFILA

Para altura de plantas (ALT), massa seca de folha (MSF), massa seca de colmo + bainha (MSCB) e área foliar (AF) houve efeito significativo dos tratamentos em Braganey, para altura de plantas (ALT), massa seca de folha (MSF) e área foliar (AF), em Entre Rios do Oeste. (Tabela 2). No entanto, não ocorreu efeito significativo dos tratamentos para o teor relativo de clorofila (SPAD) em Braganey e para MSCB e SPAD em Entre Rios do Oeste (Tabela 2).

Para o teor relativo de clorofila resultados similares foram obtidos pelos estudos de Cecatto et al. (2021) e Ferreira et al. (2022). Assim, Cecatto et al. (2021) ao estudarem o efeito da inoculação via semente de plantas de milho com *A. brasilense* não constataram efeito da inoculação para o índice SPAD aos 15 e 40 dias após a emergência das plantas. Ferreira et al. (2022) ao estudarem o efeito da inoculação via semente de *Bacillus sp.* na cultura do milho também não constataram efeito da inoculação para o índice SPAD.

Para massa seca de colmo + bainha no experimento realizado em Braganey as plantas que receberam inoculação com o *B. megaterium* e *B. subtilis* (T3) apresentaram massa seca de colmo + bainha superior aos demais tratamentos inoculados e ao tratamento controle (T1), plantas que receberam inoculação dos tratamentos T2, T5, T6, T10 e T12 apresentaram incremento de massa seca de colmo + bainha em comparação com as plantas não inoculadas (T1). Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Guimarães et al. (2022). Os autores observaram que plantas de milho inoculadas com *B. megaterium* e *B. subtilis* testadas em condições edafoclimáticas de quatro localidades na Região Oeste do estado do Paraná apresentaram incrementos na massa seca de colmo + bainha.

No presente estudo não foi observado o efeito dos tratamentos para massa seca de colmo + bainha no experimento realizado em Entre Rios do Oeste, assim como em estudo realizado por Morais et al. (2018). Os autores ao estudarem o efeito da inoculação de *A. brasilense* associados a doses de nitrogênio em plantas de milho não constaram efeito da inoculação para massa seca de colmo + bainha.

Em Braganey as plantas de milho dos tratamentos T2, T3, T4, T5, T6, T7, T10, T11 e T12 que foram submetidas a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal apresentaram incremento em altura de planta da ordem de 11% em comparação com plantas do tratamento T1 (plantas não inoculadas) (Tabela 2).

Tabela 2. Médias da altura de planta (ALT), área foliar (AF), massa seca de folhas (MSF), massa seca de colmo + bainha (MSCB) e teor relativo de clorofila (SPAD) de plantas de milho, submetidas a inoculação de sementes com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Braganey – PR, 2020/2021.

Tratamentos	Braganey				
	ALT	AF	MSF	MSCB	SPAD
	cm	m ² planta ⁻¹	-----g planta ⁻¹ -----		índice
T1. Controle	232,3 b	1,1 b	142,3 f	225,0 d	55,3
T2. Azo	257,1 a	1,5 a	179,4 abc	268,8 b	56,4
T3. BmBs	252,7 a	1,4 a	168,3 bcde	330,0 a	59,1
T4. Pseu	254,6 a	1,5 a	176,3 abcd	257,5 bcd	57,0
T5. Bl	263,4 a	1,5 a	157,3 e	266,3 b	56,4
T6. Azo+BmBs	262,0 a	1,4 a	165,5 cde	267,5 b	58,7
T7. Azo+Bl	253,2 a	1,5 a	160,0 e	237,5 bcd	55,6
T8. Azo+Pseu	246,6 ab	1,4 a	184,7 a	230,0 cd	56,4
T9. Azo+BmBs+Bl	248,8 ab	1,4 a	164,1 de	255,0 bcd	58,7
T10. Azo+BmBs+Pseu	262,7 a	1,4 a	158,6 e	265,0 bc	55,7
T11. Azo+Bl+Pseu	259,3 a	1,4 a	171,1 abcde	230,0 cd	56,4
T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu	250,4 a	1,4 a	182,2 ab	270,0 b	58,2
CV%	4,5	8,7	5,6	8,5	3,4

Tratamentos	Entre Rios do Oeste				
	ALT	AF	MSF	MSCB	SPAD
	cm	g planta ⁻¹	-----g planta ⁻¹ -----		índice
T1. Controle	220,3 e	0,9 b	127,9 f	270,0 ^{ns}	54,7 ^{ns}
T2. Azo	233,6 abcd	1,4 a	161,2 abc	327,5	61,1
T3. BmBs	231,8 bcde	1,2 a	151,2 bcde	285,8	55,6
T4. Pseu	224,3 de	1,4 a	158,4 abcd	321,7	56,2
T5. Bl	245,0 a	1,4 a	141,3 e	301,7	54,7
T6. Azo+BmBs	240,4 abc	1,2 a	148,8 cde	288,7	58,8
T7. Azo+Bl	232,3 bcde	1,4 a	143,8 e	296,2	54,5
T8. Azo+Pseu	222,4 de	1,2 a	166,0 a	310,0	57,4
T9. Azo+BmBs+Bl	228,3 cde	1,2 a	147,5 de	290,0	59,0
T10. Azo+BmBs+Pseu	241,0 ab	1,3 a	142,5 e	306,7	58,3
T11. Azo+Bl+Pseu	238,0 abc	1,3 a	153,7 abcde	297,5	59,6
T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu	229,8 bcde	1,2 a	163,7 ab	326,2	55,9
CV%	3,2	9,6	5,6	8,7	5,5

Nota, ^{ns} não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (p<0,05). T1. Controle = sem inoculação; T2. Azo = inoculação com *Azospirillum brasilense*; T3. BmBs = inoculação com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*; T4. Pseu = inoculação com *Pseudomonas fluorescens*; T5. Bl = inoculação com *Bacillus licheniformis*; T6. Azo+BmBs = inoculação com *A. brasilense* + com *B. megaterium* e *B. subtilis*; T7. Azo+Bl = inoculação com *A. brasilense* + *B. licheniformis*; T8. Azo+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T9. Azo+BmBs+Bl = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*; T10. Azo+BmBs+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *P. fluorescens*; T11. Azo+Bl+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*; T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*. CV = Coeficiente de variação.

Em Entre Rios do Oeste as plantas de milho dos tratamentos T2, T5, T6, T10 e T11 que foram submetidas a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal

apresentaram incremento em altura de planta da ordem de 9% em comparação com plantas do tratamento T1 (plantas não inoculadas) (Tabela 2).

Machado et al. (2020) estudando o efeito da inoculação de *Bacillus sp.* via foliar associada a diferentes doses de N observaram incremento na altura das plantas inoculadas da ordem de 10% em relação a plantas que não receberam inoculação. No mesmo sentido Akinrinlola et al. (2018) analisando o efeito da inoculação de plantas de milho com bactérias dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas*, observaram incrementos de 18 a 45% na altura de plantas de milho aos vinte dias após a emergência, os autores também constataram incremento na altura em plantas de soja e trigo.

As plantas de todos os tratamentos que foram inoculados com BPCVs apresentaram incremento em massa seca de folha, com incremento médio da ordem de 19 % nos dois locais ao comparar com plantas não inoculadas (Tabela 2).

Plantas inoculadas com *A. brasilense* + *P. fluorescens* (T8) tiveram incrementos médios massa seca de folhas da ordem de 30% nos dois locais estudados ao comparar com plantas não inoculadas (T1), plantas do T8 apresentaram massa seca de folhas superior ao das plantas dos tratamentos T3, T5, T6, T7, T9 e T10 nos dois locais estudados (Tabela 2).

Trabalhos realizados por Sandini et al. (2019) e Fukami et al. (2017) estudando os efeitos da inoculação de *A. brasilense* constataram incremento em massa seca de folhas, corroborando os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 2).

As plantas de milho de todos os tratamentos submetidos a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal apresentaram incrementos na área foliar ao comparar com plantas não inoculadas (T1) em Braganey e em Entre Rios do Oeste (Tabela 2). Jalal et al. (2022) também observaram incrementos no índice de área foliar de plantas inoculadas com *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens*. Muller et al. (2020) constaram resultados semelhantes, estudando o efeito da inoculação de *A. brasilense* via tratamento de semente e via aplicação foliar na cultura do milho. Nesse estudo, plantas de milho inoculadas via semente e/ou via aplicação foliar apresentaram incremento no índice de área foliar em comparação com plantas não inoculadas.

Para compreender os maiores valores em altura de plantas, massa seca de folhas e área foliar das plantas de milho inoculadas com BPCVs, observa-se que bactérias dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas* fornecem hormônios vegetais como auxinas, giberelinas e citocininas (ZAREI et al., 2019; MACHADO et al., 2020). Sendo que o fornecimento desses hormônios vegetais pelas bactérias estimula o crescimento das plantas (HASHIM et al., 2019;

CASSAN e DIAZ ZORITA, 2016; PICAZEVICZ, 2019) e contribuiu para os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 2).

O incremento em altura, massa seca de folhas e área foliar das plantas inoculadas também pode estar relacionado a capacidade de solubilização de fósforo pelas bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* (FERREIRA et al., 2022), contribuindo para a maior absorção deste nutriente pelas plantas inoculadas (ZAREI et al., 2019). Além disso, as BPCVs ao fornecer hormônios vegetais que estimulam o maior alongamento da raiz (SHAO et al., 2015) e conseqüentemente causa a formação de um sistema radicular que explora maior volume de solo e proporciona a capacidade de absorver maior quantidade de nutrientes do solo pelas plantas (HUSSAIN et al., 2015; JALAL et al., 2022). Essa discussão é confirmada pelo incremento dos teores foliares de fósforo e potássio em plantas inoculadas em relação às não inoculadas (Tabela 3).

4.2 TEORES DE NUTRIENTES FOLIARES

Para os teores foliares de fósforo (P) e potássio (K) dos experimentos em Braganey e em Entre Rios do Oeste houve efeito significativo para os tratamentos estudados. No entanto, não houve efeito dos tratamentos testados para os teores foliares de nitrogênio (N) (Tabela 3).

Moreno et al. (2021) estudando o efeito da inoculação via semente de *A. brasilense* e *B. subtilis* na cultura do milho também não constaram incremento do teor foliar de nitrogênio em plantas de milho inoculadas em comparação com plantas não inoculadas. Resultados semelhantes também foram obtidos por Peres et al. (2020) que ao estudarem o efeito da inoculação via semente com *A. brasilense* em três cultivares de milho, não constaram incremento do teor foliar de nitrogênio em plantas de milho inoculadas em comparação com plantas não inoculadas.

As plantas de milho dos tratamentos inoculados com BPCVs obtiveram incremento do teor foliar de fósforo na ordem de 17% e 15% em Braganey e Entre Rios do Oeste, respectivamente, em comparação com as plantas sem inoculação (T1) de cada experimento.

As plantas inoculadas com *B. licheniformis* (T5) apresentaram teor foliar de fósforo superior as plantas inoculadas com os tratamentos, T2, T7, T8, T11 em Braganey e superior as plantas inoculadas com os tratamentos T2, T3, T4, T6, T7, T8, T9, T10, T11 e T12, em Entre Rios do Oeste.

Tabela 3. Médias dos teores foliares de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) de plantas de milho, submetidas a coinoculação de sementes com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Braganey – PR e Entre Rios do Oeste – PR, 2020/2021.

Tratamentos	Braganey			Entre Rios do Oeste		
	N	P	K	N	P	K
	g Kg ⁻¹					
T1. Controle	21,6 ^{ns}	3,6 c	18,9 b	24,6 ^{ns}	3,8 c	20,5 b
T2. Azo	26,7	4,1 b	24,0 a	20,7	4,2 b	27,8 a
T3. BmBs	23,1	4,2 ab	25,2 a	22,6	4,3 b	24,1 a
T4. Pseu	23,3	4,2 ab	22,4 a	23,7	4,3 b	24,3 a
T5. Bl	26,1	4,6 a	25,1 a	24,0	4,9 a	27,2 a
T6. Azo+BmBs	24,4	4,2 ab	23,4 a	22,0	4,4 b	25,4 a
T7. Azo+Bl	26,7	4,1 b	24,1 a	22,0	4,2 b	27,9 a
T8. Azo+Pseu	25,1	4,1 b	22,4 a	22,4	4,2 b	26,1 a
T9. Azo+BmBs+Bl	25,1	4,4 ab	25,5 a	22,9	4,5 b	26,2 a
T10. Azo+BmBs+Pseu	26,5	4,2 ab	23,2 a	23,4	4,3 b	27,6 a
T11. Azo+Bl+Pseu	26,3	4,1 b	24,2 a	24,9	4,2 b	27,4 a
T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu	24,2	4,2 ab	24,6 a	23,8	4,2 b	25,2 a
CV%	10,4	5,9	9,53	11,9	5,7	6,2

Nota, ^{ns} não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (p<0,05). T1. Controle = sem inoculação; T2. Azo = inoculação com *Azospirillum brasilense*; T3. BmBs = inoculação com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*; T4. Pseu = inoculação com *Pseudomonas fluorescens*; T5. Bl = inoculação com *Bacillus licheniformis*; T6. Azo+BmBs = inoculação com *A. brasilense* + com *B. megaterium* e *B. subtilis*; T7. Azo+Bl = inoculação com *A. brasilense* + *B. licheniformis*; T8. Azo+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T9. Azo+BmBs+Bl = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*; T10. Azo+BmBs+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *P. fluorescens*; T11. Azo+Bl+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*; T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*. CV = Coeficiente de variação.

Pereira et al. (2020) estudando a cultura do milho com cinco doses de P₂O₅ associadas inoculação com BPCVs constaram que a inoculação de *B. subtilis* e *A. brasilenses* causa aumento dos teores foliares de fósforo.

As plantas de milho dos tratamentos inoculados com BPCVs apresentaram teores foliares de potássio superiores as plantas não inoculadas tanto em Braganey como em Entre Rios do Oeste (Tabela 3), obtendo incremento médio 26% e 28% nos teores foliares de K respectivamente nos dois locais ao comparar com plantas não inoculadas (T1) (Tabela 3).

Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Guimarães et al. (2022). Os autores observaram que plantas de milho inoculadas com *B. megaterium* e *B. subtilis* testadas em condições edafoclimáticas de quatro localidades na Região Oeste do estado do Paraná apresentaram incrementos dos teores foliares de fósforo e potássio. Os autores constaram incremento do teor foliar de potássio associado ao maior crescimento das plantas inoculadas ao comparar com plantas não inoculadas.

Para compreender os incrementos dos teores foliares de fósforo e potássio, observa-se que plantas inoculadas apresentam sistema radicular com maior volume de exploração do solo (CASSAN e DIAZ ZORITA, 2016; FUKAMI; CERZINI; HUNGRIA, 2018; MÜLLER et al., 2019). Assim, essas plantas ao explorarem maior volume de solo apresentam maior capacidade de absorver fósforo e potássio da solução do solo (HUNGRIA et al., 2010), corroborando com os resultados do presente estudo (Tabela 3). Para o incremento de fósforo nos tecidos foliares é preciso considerar que plantas inoculadas com bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* também são beneficiadas pela capacidade de solubilização de fosfatos que aumenta a disponibilidade de fósforo na solução do solo e contribuiu para sua maior absorção pelas plantas (Tabela 3).

4.3 TEORES DE NUTRIENTES NOS GRÃOS

Para os teores de fósforo (P) nos grãos houve efeito significativo para os tratamentos estudados no experimento de Braganey e no experimento de Entre Rios do Oeste.

Tabela 4. Médias dos teores de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) em grãos de plantas de milho, submetidas a coinoculação de sementes com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Braganey – PR e Entre Rios do Oeste – PR, 2020/2021.

Tratamentos	Braganey			Entre Rios do Oeste		
	N	P	K	N	P	K
	g Kg ⁻¹					
T1. Controle	14,8 ^{ns}	6,6 b	17,2 ^{ns}	15,3 ^{ns}	6,9 b	16,7 ^{ns}
T2. Azo	16,0	8,3 a	20,0	16,5	8,5 a	19,4
T3. BmBs	15,3	8,3 a	20,6	15,7	9,0 a	20,1
T4. Pseu	15,0	7,6 a	22,1	15,4	8,2 a	17,1
T5. Bl	15,0	8,0 a	21,2	15,4	8,7 a	20,8
T6. Azo+BmBs	15,5	7,6 a	20,1	16,0	8,2 a	19,6
T7. Azo+Bl	15,2	7,9 a	21,0	15,7	8,9 a	20,5
T8. Azo+Pseu	14,9	7,7 a	20,5	15,3	8,5 a	20,0
T9. Azo+BmBs+Bl	16,3	7,7 a	19,6	16,8	8,0 a	19,1
T10. Azo+BmBs+Pseu	15,7	7,8 a	20,0	16,2	8,4 a	19,5
T11. Azo+Bl+Pseu	16,1	7,8 a	18,2	16,6	8,4 a	17,8
T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu	16,2	8,3 a	17,9	16,7	8,9 a	17,5
CV%	6,9	7,9	13,6	6,4	7,8	6,2

Nota, ^{ns} não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (p<0,05). T1. Controle = sem inoculação; T2. Azo = inoculação com *Azospirillum brasilense*; T3. BmBs = inoculação com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*; T4. Pseu = inoculação com *Pseudomonas fluorescens*; T5. Bl = inoculação com *Bacillus licheniformis*; T6. Azo+BmBs = inoculação com *A. brasilense* + com *B. megaterium* e *B. subtilis*; T7. Azo+Bl = inoculação com *A. brasilense* + *B. licheniformis*; T8. Azo+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T9. Azo+BmBs+Bl = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*; T10. Azo+BmBs+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *P. fluorescens*; T11. Azo+Bl+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*; T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*. CV = Coeficiente de variação.

No entanto, não ocorreu efeito significativo dos tratamentos testados para os teores de nitrogênio (N) e potássio (K) nos grãos para os diferentes locais (Tabela 4).

As plantas de milho de todos os tratamentos que receberam inoculação com BPCVs apresentaram teores de fósforo nos grãos superiores em comparação com aquelas sem inoculação (T1) e semelhantes entre si em Braganey e em Entre Rios do Oeste (Tabela 4).

As plantas de milho dos tratamentos inoculados com BPCVs obtiveram um incremento médio do teor nos grãos de fósforo na ordem de 20% e 23% em comparação com as plantas do tratamento sem inoculação (T1) para os experimentos em Braganey e Entre Rios do Oeste respectivamente (Tabela 4).

Pereira et al. (2020) encontraram resultados similares, estudando a coinoculação de plantas de milho com *B. subtilis*, *A. brasilense* e *P. fluorescens* associada com doses de P_2O_5 . Os autores observaram o aumento dos teores de fósforo nos grãos em plantas inoculadas.

O incremento do teor de fósforo nos grãos em plantas inoculadas pode estar associado com o fato de BPCVs participarem ativamente do metabolismo da planta, sendo capazes de aumentar a absorção dos nutrientes (CASSAN e DIAZ ZORITA, 2016) pela planta através da expansão radicular proporcionada pelo fornecimento de hormônios vegetais (MULLER et al., 2020), bem como, pela capacidade de solubilizar os fosfatos que se encontram no solo (MACHADO et al., 2020).

4.4 COMPONENTES DA PRODUÇÃO E PRODUTIVIDADE

Para massa de mil grãos (MMG) e produtividade (PROD) ocorreu efeito significativo para os tratamentos testados no experimento em Braganey e no experimento em Entre Rios do Oeste. No entanto, não ocorreu efeito significativo para os componentes da produção, número de grãos por fileira (NGF) e número de fileiras (NF) nos dois locais (Tabela 5).

As plantas de milho de todos os tratamentos inoculados com bactérias promotoras de crescimento vegetal apresentaram massas de mil grãos semelhantes entre si e superior em comparação às plantas não inoculadas nos dois locais do estudo (T1) (Tabela 5).

As plantas de milho dos tratamentos inoculados com BPCVs obtiveram um incremento médio na massa de mil grãos na ordem de 13 % e 19% em comparação as plantas não inoculadas (T1) em Braganey e em Entre Rios do Oeste respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5. Médias de número de fileiras (NF), número de grãos por fileira (NGF), massa de mil grãos (MMG), e produtividade (PROD) de plantas de milho, submetidas a coinoculação de sementes com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Braganey – PR e Entre Rios do Oeste – PR, 2020/2021.

Tratamentos	Braganey			
	NF	NGF	MMG g	PROD Kg ha ⁻¹
T1. Controle	15,1 ^{ns}	22,9 ^{ns}	269,9 c	7.183,6 b
T2. Azo	15,4	25,9	321,5 ab	8.891,4 a
T3. BmBs	15,5	26,3	297,8 ab	8.828,6 a
T4. Pseu	15,3	24,7	305,5 ab	8.392,5 a
T5. Bl	15,7	25,8	322,7 a	8.629,1 a
T6. Azo+BmBs	15,4	25,7	323,4 a	8.621,9 a
T7. Azo+Bl	16,0	24,3	297,1 ab	8.309,5 a
T8. Azo+Pseu	15,5	25,0	299,9 ab	8.103,0 a
T9. Azo+BmBs+Bl	15,4	26,4	295,5 b	8.106,4 a
T10. Azo+BmBs+Pseu	15,2	26,3	303,4 ab	8.202,9 a
T11. Azo+Bl+Pseu	15,6	25,3	298,9 ab	8.638,5 a
T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu	15,8	24,8	301,0 ab	8.632,5 a
CV%	2,5	8,5	5,3	5,7

Tratamentos	Entre Rios do Oeste			
	NF	NGF	MMG g	PROD Kg ha ⁻¹
T1. Controle	15,5 ^{ns}	28,2 ^{ns}	272,5 b	7.601,1 e
T2. Azo	15,1	29,2	346,8 a	9.622,5 ab
T3. BmBs	15,2	31,0	313,5 a	9.293,3 abcd
T4. Pseu	15,0	29,1	321,6 a	8.834,3 bcd
T5. Bl	15,4	30,4	312,3 a	9.775,0 a
T6. Azo+BmBs	15,1	30,3	342,1 a	9.075,6 bcd
T7. Azo+Bl	15,8	28,6	312,7 a	8.746,9 bcd
T8. Azo+Pseu	15,2	29,4	319,7 a	8.445,0 d
T9. Azo+BmBs+Bl	15,1	31,1	310,8 a	8.430,1 d
T10. Azo+BmBs+Pseu	14,9	31,0	319,4 a	8.634,6 cd
T11. Azo+Bl+Pseu	15,3	28,5	343,8 a	9.455,0 abc
T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu	14,8	30,5	320,3 a	9.086,9 abcd
CV%	2,5	8,0	4,6	6,2

Nota, ^{ns} não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (p<0,05). T1. Controle = sem inoculação; T2. Azo = inoculação com *Azospirillum brasilense*; T3. BmBs = inoculação com *Bacillus megaterium* e *Bacillus subtilis*; T4. Pseu = inoculação com *Pseudomonas fluorescens*; T5. Bl = inoculação com *Bacillus licheniformis*; T6. Azo+BmBs = inoculação com *A. brasilense* + com *B. megaterium* e *B. subtilis*; T7. Azo+Bl = inoculação com *A. brasilense* + *B. licheniformis*; T8. Azo+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T9. Azo+BmBs+Bl = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*; T10. Azo+BmBs+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *P. fluorescens*; T11. Azo+Bl+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*; T12. Azo+BmBs+Bl+Pseu = inoculação com *A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis* + *P. fluorescens*. CV = Coeficiente de variação.

As plantas que receberam dos tratamentos T5 (*B. licheniformis*) e T6 (*A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis*) apresentaram massa de mil grãos superior as plantas do tratamento T9 (*A. brasilense* + *B. megaterium* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*) no experimento realizado em Braganey, porém não foram observadas diferenças para a massa de mil grãos entre os tratamentos inoculados implantados em Entre Rios do Oeste.

As plantas dos tratamentos que receberam inoculação com BPCVs tiveram medias de produtividade superiores as plantas não inoculadas (T1) nos dois locais estudados.

Plantas de milho dos tratamentos inoculados com BPCVs obtiveram um incremento da produtividade (kg ha^{-1}) médio de 18% e 19%, respectivamente em Braganey e Entre Rios do Oeste, em comparação com as plantas dos tratamentos sem inoculação (T1) de cada local.

As plantas que receberam inoculação com BPCVs tiveram medias de produtividades semelhantes entre si no experimento de Braganey. Já as plantas que receberam inoculação com o tratamento T5 (*B. licheniformis*) apresentaram produtividade superior as plantas inoculadas com os tratamentos T4, T7, T8, T9 e T10 no experimento de Entre Rios do Oeste.

Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Guimarães et al. (2022). Os autores observaram que plantas de milho inoculadas com *B. megaterium* e *B. subtilis* testadas em condições edafoclimáticas de duas localidades na Região Oeste do estado do Paraná apresentaram medias superiores para massa de mil grão. Sandini et al. (2019) realizando experimentos em diversos locais do Brasil, constaram que a inoculação de plantas de milho *P. fluorescens* é capaz de promover o crescimento e a produtividade das plantas sob diferentes níveis de tecnologia aplicada à cultura do milho.

Para compreender melhor o fato de plantas inoculadas apresentarem incremento para massa de mil grãos e produtividade, observa-se que plantas inoculadas apresentaram maior massa e área foliar no início da fase reprodutiva (R_1) (Tabela 2) e maiores teores de fósforo e potássio (Tabela 3) o que pode ter contribuído para maior produção de fotoassimilados que posteriormente foram alocados nos grãos. Desta forma, contribuindo para maior massa de mil grãos e conseqüentemente proporcionando incremento da produtividade (11% a 27%) em plantas inoculadas em comparação com a plantas não inoculadas (Tabela 5).

Pode-se então afirmar que plantas de milho expostas a inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus* e *Pseudomonas* apresentam maior crescimento (Tabela 2) associado ao incremento dos teores foliares de fósforo e potássio (Tabela 3) e maiores teores de fósforo nos grãos (Tabela 4) que resultam em maior massa de mil grão que conseqüentemente causa o incremento da produtividade das plantas inoculadas (Tabela 5).

5 CONCLUSÕES

A inoculação via semente na cultura do milho, com *Azospirillum brasilense*, *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis* + *B. megaterium* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada e conjunta, incrementa os teores foliares de fósforo e potássio nas plantas.

A inoculação via semente na cultura do milho, com *Azospirillum brasilense*, *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. megaterium* e *Pseudomonas fluorescens*, de forma isolada ou conjunta, promove maior crescimento das plantas e incrementa a produtividade da cultura.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante fazer algumas considerações gerais sobre os resultados obtidos nos experimentos realizados nas duas áreas experimentais nos municípios de Braganey e Entre Rios do Oeste, ambos no estado Paraná. Estas considerações se devem a variações relativas às condições meteorológicas e edáficas, principalmente no tocante aos teores de matéria orgânica e características químicas dos solos das áreas em questão.

No experimento conduzido no município de Braganey o somatório do volume pluviométrico durante o ciclo de cultivo foi suficiente para desenvolvimento da cultura (ALBUQUERQUE, 2010). Porém, devido à distribuição irregular das chuvas foi observado baixa disponibilidade hídrica nos estádios fenológicos R₁ e R₂ (Figura 1) o que provavelmente resultou em produtividades numericamente inferiores da cultura nesta área, quando comparada às produtividades obtidas no município de Entre Rios do Oeste.

Associado à disponibilidade hídrica, o solo de Braganey apresentou pH 4,69, V% 56,47%, P 18,94 mg dm⁻³, MO 26,20 g dm⁻³, e CTC de 13,36. O solo da área experimental de Entre Rios do Oeste apresenta fatores favoráveis à maior produtividade da cultura, com pH 5,65, V% 77,5%, P 27,72 mg dm⁻³, matéria orgânica (MO) 42,91 g dm⁻³ e CTC de 15,96. O solo desta área experimental apresentou 63,77% a mais de MO em comparação com Braganey.

A matéria orgânica do solo atua na CTC, pois quanto maior o teor de carbono orgânico no solo, maior a CTC do solo, e assim maior a capacidade de adsorção de cátions (NOVAIS et al., 2007). A MO atua no fornecimento de P e K para a cultura, na disponibilidade potássio, pela retenção de K-trocável, evitando a lixiviação no perfil do solo, e na dinâmica do fósforo, pela capacidade de adsorver o fósforo, evitando sua fixação com as argilas, óxidos de alumínio e ferro (MARTIN et al., 2004). Ainda vale destacar o fornecimento de fósforo e pela a mineralização enzimática promovida pelas BPCVs (MENDES et al., 2014; LI et al., 2015; GROBELAK et al., 2015; AFZAL et al., 2017).

A influência de fatores do tempo, com destaque para a maior uniformidade da distribuição pluviométrica durante o ciclo da cultura, associada a características nutricionais mais adequadas do solo, podem explicar tendência de maior produtividade do milho no experimento conduzido em área do município de Entre Rios do Oeste quando comparado ao conduzido em Braganey, mesmo considerando o maior potencial produtivo de Braganey devido à altitude de 620 m, comparada aos 250 m da área de Entre Rios do Oeste. Estas condições favoráveis registradas em Entre Rios do Oeste podem ter favorecido a interação planta-bactéria,

resultando em respostas mais claras desta interação expressa em variáveis morfométricas, nutricionais e produtivas das plantas de milho.

Vale ressaltar então que para obtenção de respostas mais consistentes quanto á interação bactéria-planta, que podem resultar em plantas mais desenvolvidas e produtivas deve-se levar em consideração o atendimento de fatores de produção como disponibilidade hídrica, teor de matéria orgânica do solo, além de características químicas como pH, teor e equilíbrios dos nutrientes disponíveis para as plantas. Deve-se então associar a prática da inoculação e coinoculação com manejo do solo visando favorecer esta interação com respostas economicamente e ambientalmente viáveis.

REFERÊNCIAS

- ABBO, S.; LEV-YADUN, S.; GOPHER, A. agricultural origins: centers and non centers; a near eastern reappraisal. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 29, n. 5, p. 317–328, 2010.
- ABIMILHO – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DO MILHO. **Estatísticas**. Disponível em: <http://www.abimilho.com.br/estatisticas>. Acesso em: 05 ago. 2022.
- AFZAL, I. et al. Plant beneficial endophytic bacteria: mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v. 221, p. 36-49, 2019.
- AFZAL, I. et al. Plant growth-promoting potential of endophytic bacteria isolated from roots of wild *Dodonaea viscosa* L. **Plant Growth Regulation**. 81, n. 3, p. 399-408, 2017.
- AKINRINLOLA R. J., YUEN G. Y., DRIJBER R. A., ADESEMOYE A. O., "Evaluation of *Bacillus* Strains for Plant Growth Promotion and Predictability of Efficacy by In Vitro Physiological Traits", **International Journal of Microbiology**, vol. 2018, Article ID 5686874, p. 11, 03 outubro 2018.
- ALBUQUERQUE, P. E. P. Manejo de irrigação na cultura do milho. **Embrapa Milho e Sorgo. Sistema de Produção**, 1 ISSN 1679-012X Versão Eletrônica - 6ª edição Set./2010.
- AMIN, A.; LATIF, Z. Screening of mercury-resistant and indole-3-acetic acid producing bacterial-consortium for growth promotion of *Cicer arietinum* L. **Journal of Basic Microbiology**, v. 57, n. 3, p. 204-217, 2017.
- BASU, S.; RABARA, R.; NEGI, S. Towards a better greener future - an alternative strategy using biofertilizers. I: Plant growth promoting bacteria. **Plant Gene**, v. 12, p. 43-49, 2017.
- BATISTA, B. D. et al. Screening of tropically derived, multi-trait plant growth- promoting rhizobacteria and evaluation of corn and soybean colonization ability. **Microbiological Research**, v. 206, p. 33-42, 2018.
- BIELENSKI, R.L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 24: 225-252, 1973.
- BOMFIM, C. S. G. et al. Endophytic bacteria naturally inhabiting commercial maize seeds occupy different niches and are efficient plant growth-promoting agents. **Symbiosis**, v. 81, n. 3, p. 255-269, 2020.
- BRITO, T. S., et al. Morphometry and production of maize inoculated with *Azospirillum brasilense*. **Colloquium Agrariae**, v. 17, p. 34-46, 2021.
- BULEGON, L. G. et al. Enzymatic activity, gas exchange and production of soybean coinoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense*. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 7, p. 888–896, 20 jul. 2017.
- BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343–349, 2016.

- CASSAN, F.; DIAZ-ZORITA, M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 103, p. 117–130, 2016.
- CASSAN, F.; VANDERLEYDEN, J.; SPAEPEN, S. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPB) belonging to the genus *Azospirillum*. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 33, n. 2, p. 440–459, 2014.
- CASTILLO P. et al, Phytohormones and Other Plant Growth Regulators Produced by PGPR: The Genus *Azospirillum*. In: Cassán FD, Okon Y, Creus CM, editors. *Handb Azospirillum Tech Issues Protoc*. 1st ed. **Springer**; p. 115–138.2015.
- CATO, S. C. et al. Sinergism among auxins, gibberellins and cytokinins in tomato cv. Micro-Tom. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 549–553, 2013.
- CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. Cartas climáticas do Estado do Paraná. IAPAR, **Londrina**. 2000.
- CECATTO, R. et al. Fertilização de sulfato de magnésio na cultura do milho submetido à inoculação de bactérias promotoras de crescimento vegetal. **Cultivando o Saber**, v.14, n.1, p.53-64, 2021.
- CHIBEBA, A. M. et al. Towards sustainable yield improvement: field inoculation of soybean with Bradyrhizobium and co-inoculation with *Azospirillum* in Mozambique. **Archives of Microbiology**, v. 202, p. 2579-2590, 2020.
- COELHO, L. F. et al. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus spp.* com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 6, p. 1413–1420, 2007.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2019) Acompanhamento da safra brasileira grãos, safra 2020/2021. Conab, Brasília. Disponível em <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso 10 de agosto 2022.
- CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGUI, E.; MIRANDA, R. A.; SILVA, A. F.; SILVA, D. D.; MACHADO, J. R. A.; COTA, L. V.; COSTA, L. V.; MENDES, S.M. **Milho – Caracterização e Desafios Tecnológicos**. EMBRAPA. 2019.
- DAR, T. A. et al. Jasmonates counter plant stress: a review. **Environmental and Experimental Botany**. v. 115, p. 49-57, 2015.
- DOBEREINER, J. *Azotobacter paspali* sp. n., uma bactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera de *Paspalum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, p. 357–365, 1966.
- FAO, STAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations: Statistics Division (2020) <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso 03. agosto 2022
- FERREIRA, T. C. et al. Potential of *Bacillus spp.* for growth promotion and *Fusarium verticillioides* control in corn. **Summa Phytopathologica**, v. 47, n. 4, p. 195–203, 12 março 2022.
- FUKAMI, J. et al. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

FUKAMI, J. et al. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, v. 7, n. 1, p. 153, 2017.

FUKAMI, J.; CERZINI, P.; HUNGRIA, M. *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation; **AMB ExpressSpringer Verlag**, v. 8, n. 73, 1-12, 1 dezembro. 2018.

GARCIA, J. E. et al. In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. **Microbiological Research**, v. 202, p. 21-29, 2017.

GARCIA, T. V.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Bactérias endofíticas como agentes de controle biológico na orizicultura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1–9, 2015.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, v.2012, p. 963401, 2012.

GROBELAK, A.; NAPORA, A.; KACPRZAK, M. Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. **Ecological Engineering**, v. 84, p. 22-28, 2015.

GUIMARÃES, V. F.; KLEIN, J.; SILVA, A. S. L.; KLEIN, D. K. Inoculant efficiency containing *Bacillus megaterium* (B119) and *Bacillus subtilis* (B2084) for maize culture, associated with phosphate fertilization. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. 1-28, 25 setembro 2021.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; FATHI ABD_ALLAH, E. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v 6, n. 26, 1 setembro. 2019.

HUNGRIA, M.; CAMPOS, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v.331, p.413-425, 13 janeiro 2010.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 221, p. 125-131, 2016.

HUNGRIA, M.; RIBEIRO, R. A.; NOGUEIRA, M. A. DRAFT genome sequences of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6, commercially used in inoculants for grasses and legumes in Brazil. **Genome Announcements**, v. 6, n. 20, 2018.

HUSSAIN, A. et al. Effect of IAA on in vitro growth and colonization of Nostoc in plant roots. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. 46, p. 1-9, 5 fev. 2015.

IKEDA, A. C. et al. Bioprospecting of elite plant growth-promoting bacteria for the maize crop. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 42, n. 1, p. 44364, 2020.

JALAL, A. et al. Diazotrophic bacteria is an alternative strategy for increasing grain biofortification, yield and zinc use efficiency of maize. **Plants**, v. 6, n. 11, p. 1-17, 2022.

- KHAN, A. L. et al. Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 21, p. 58-64, 2016.
- KOUR, D. et al. Microbial biofertilizers: bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, p. 101487, 2020.
- KUAN, K. B. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0152478-e0152478, 2016.
- LANA, M. C.; FRANDOLOSO, J. F.; FEY, R.; RICHARDT, A.; FONTANIVA, S. **Análise química de solo e de tecido vegetal: metodologias analíticas**. 2 ed. Cascavel: EDUNIOESTE, 2016. 155 p.
- LI, X. et al. Mechanisms for solubilization of various insoluble phosphates and activation of immobilized phosphates in different soils by an efficient and salinity-tolerant *Aspergillus niger* strain An2. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 5, p. 2755-2768, 2015.
- LI, Y. et al. Colonization and maize growth promotion induced by phosphate solubilizing bacterial isolates. **International journal of molecular sciences**, vol. 18, n. 7, p. 1-16, 2017.
- MACHADO, R. et al. Inoculação foliar de plantas de milho com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 34, 30 dez. 2020.
- MAGALHÃES P.C; DURÃES F.O.M. Circular Técnica 76 - Fisiologia da Produção de Milho. In: Barbosa TMA, editor. **Circ Técnicas Embrapa**. Vol. 1. 1st ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo; p. 10. 2006.
- MAHMUD, K. et al. Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. **Plants**, v. 9, n. 1, 2020.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: Abrates, 2015. 659 p.
- MARTIN, M.; CELI, L.; BARBERIS, E. Desorption and plant availability of myoinositol hexaphosphate adsorbed on goethite. **Soil Sci.**, 169: 115-124, 2004
- MASCIARELLI, O. et al. Alternative mechanism for the evaluation of indole-3-acetic acid (IAA) production by *Azospirillum brasilense* strains and its effects on the germination and growth of maize seedlings. **Journal of Microbiology**, v. 51, n. 5, p. 590–597, 2013.
- MATSUOKA, Y.; VIGOUROUX, Y.; GOODMAN, M. M.; G, J. S.; BUCKLER, E.; DOEBLEY, J. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 99, n. 9, p. 6080-6084, 2002.
- MENDES, G. O. et al. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 239-249, 2014.

- MENDONÇA, J. J. et al. Diversidade, mecanismos de atuação e potencial agrícola de bactérias promotoras de crescimento de plantas, usando milho como cultura exemplo. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 25, n. 2, 02 setembro 2020.
- MIRANDA, R. A. et al. **Sustentabilidade da cadeia produtiva do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2021.
- MIRANSARI, M.; SMITH, D. L. Plant hormones and seed germination. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p. 110–121, 2014.
- MORAIS, M.; AMARAL, H. F.; NUNES, M. P. Development and assimilation of maize culture inoculated with *Azospirillum brasilense* and different doses of nitrogen and potassium. **Revista Terra & Cultura**: v. 34, n. esp., p. 140-159, 2018.
- MOREIRA, F. M. S. et al. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientias**, v. 1, n. 2, p. 74–99, 2010.
- MORENO, A. DE L.; KUSDRA, J. F.; PICAZEVICZ, A. A. C. Rhizobacteria inoculation in maize associated with nitrogen and zinc fertilization at sowing1. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 25, n. 2, p. 96-100. 2021.
- MORETTI, L. G. et al. Effects of growth-promoting bacteria on soybean root activity, plant development, and yield. **Agronomy Journal**, v. 112, n. 1, p. 418-428, 2020.
- MÜLLER, T. M. et al. Genetic bases of corn inoculated with *Azospirillum brasilense* via seed and foliar application. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 43, p. 1–10, 05 de novembro 2020.
- NARAYANASAMY, S.; THANGAPPAN, S.; UTHANDI, S. Plant growth-promoting *Bacillus* sp. cahoots moisture stress alleviation in rice genotypes by triggering antioxidant defense system. **Microbiological Research**, v. 239, p. 126518, 2020.
- NOVAIS, R.P. et al. **Fertilidade do Solo**. Viçosa MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.
- OLIVEIRA-LONGATTI, S. M. et al. The culture medium volume and the inoculation method should be considered in semi-quantitative screening of calcium phosphate solubilization by bacteria. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 42, p. e44332, 2020.
- PATEL, J. K.; ARCHANA, G. Diverse culturable diazotrophic endophytic bacteria from Poaceae plants show cross-colonization and plant growth promotion in wheat. **Plant and Soil**, v. 417, n. 1-2, p. 99-116, 2017.
- PEDROSA, F. O. et al. "The Ammonium Excreting *Azospirillum brasilense* Strain Hm053: a New Alternative Inoculant for Maize." **Plant and soil**, v. 451, p. 45-56, 2019.
- PEREIRA, N. C. M. et al. Corn yield and phosphorus use efficiency response to phosphorus rates associated with plant growth promoting bacteria. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, n. 40. P. 1-12, 7 abril 2020.
- PERES, M. de S. et al. Nutritional and bromatological quality of corn silage inoculated with *Azospirillum* in single and consortiated crops. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 85974–85988, 07 de novembro 2020.

- PICAZEVICZ, A. A. C.; KUSDRA, J. F.; MORENO, A. de L. Crescimento do milho em resposta à rizobactérias, molibdênio e nitrogênio. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 4, p. 167–174, 4 setembro. 2019.
- PIETERSE, C. M. J.; DE JONGE, R.; BERENDSEN, R. L. The soil-borne supremacy. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 21, n. 3, p. 171-173, 2016.
- PUENTE, M. L. et al. Improvement of soybean grain nutritional quality under foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* strain Az39. **Symbiosis**, v. 77, n. 1, p. 41-47, 2019.
- PUENTE, M. L. et al. The benefits of foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean are explained by an auxin signaling model. **Symbiosis**, v. 76, n. 1, p. 41-49, 2018.
- PURI, A.; PADDA, K. P.; CHANWAY, C. P. In vitro and in vivo analyses of plant-growth-promoting potential of bacteria naturally associated with spruce trees growing on nutrient-poor soils. **Applied Soil Ecology**, v. 149, p. 103538, 2020.
- RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD ALLAH, E. F. *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. **Front. Physiol.** 8:667. 2017
- RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, v. 138, p. 10-18, 2019.
- RANUM, P.; PEÑA-ROSAS, J. P.; GARCIA-CASAL, M. N. Global maize production, utilization, and consumption. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1312, p. 105-112, 2014.
- RONDINA, A. B. L. et al. Changes in root morphological traits in soybean co-inoculated with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* or treated with *A. brasilense* exudates. **Biology and Fertility of Soils**, v. 56, p. 537-549, 2020.
- ROTARU, V. I.; RISNOVEANU, L. Interactive effects of plant growth-promoting rhizobacteria and phosphates sources on growth and phosphorus nutrition of soybean under moderate drought. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, Cluj-Napoca, Romania, v. 47, n. 3, p. 872-880, 2019.
- SANDINI, I. E. et al. Seed Inoculation with *Pseudomonas fluorescens* promotes growth, yield and reduces nitrogen application in maize. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 22, n. 6, p. 1369–1375, 2019.
- SANTOS, M. L. D. et al. Benefits associated with the interaction of endophytic bacteria and plants. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, p. e18160431, 2018.
- SARKAR, A. et al. A halotolerant *Enterobacter* sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress. **Research in Microbiology**, v. 169, n. 1, p. 20-32, 2018.
- SERAGUZI, E. F.; LIMA, A. N. R.; ANSELMO, J. L.; ALVAREZ, R. C. F.; Desempenho de Híbridos de Milho na Região de Chapadão do Sul, MS. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**. v. 10, n.4, p.12-14, 2016.

- SHAO, J. et al. Analysis and cloning of the synthetic pathway of the phytohormone indole-3-acetic acid in the plant-beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. **Microb Cell Fact**, v. 14, p. 130, 2 de setembro 2015.
- SHEN, F. T. et al. Screening of rice endophytic biofertilizers with fungicide tolerance and plant growth-promoting characteristics. **Sustainability**, v. 11, n. 4, p. 1133, 2019.
- SILVEIRA, A. P. D. et al. Exploitation of new endophytic bacteria and their ability to promote sugarcane growth and nitrogen nutrition. **Antonie van Leeuwenhoek. International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 112, n. 2, p. 283-295, 2019.
- SORCE, C. et al. Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees. **Plant Cell Reports**, v. 32, n. 6, p. 885–898, 2013.
- SOUZA, E. M. et al. Does the nitrogen application associated with *Azospirillum brasilense* inoculation influence corn nutrition and yield? **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 1, p. 53-59, 2019.
- TAIZ, L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.,
- VALDEZ-NUÑEZ, R. A. et al. PGPR characterization of non-nodulating bacterial endophytes from root nodules of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: Zúñiga-Dávila, D. et al. (Ed.). **Microbial probiotics for agricultural systems. Advances in agronomic use**. Springer International Publishing, p. 111-126. 2019.
- VERMA, S. K.; WHITE, J. F. Indigenous endophytic seed bacteria promote seedling development and defend against fungal disease in browntop millet (*Urochloa ramosa* L.). **Journal of Applied Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 764-778, 2018.
- ZAHHEER, M. S. et al. Investigating the effect of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium pisi* on agronomic traits of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 65, n. 11, p. 1-11, 2019.
- ZAREI, T. et al. Improving sweet corn (*Zea mays* L. var *saccharata*) growth and yield using *Pseudomonas fluorescens* inoculation under varied watering regimes. **Agricultural Water Management**, v. 226, 20 dezembro 2019.
- ZHANG, G. et al. Effects of the inoculations using bacteria producing ACC deaminase on ethylene metabolism and growth of wheat grown under different soil water contents. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 125, p. 178-184, 2018.
- LOPES, M. J. dos S. et al. Microbial biotechnology: inoculation, mechanisms of action and benefits to plants. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e356101220585, 2021