

FRANCISCO FERREIRA DE LIMA

***Bacillus subtilis* E NÍVEIS DE NITROGÊNIO SOBRE O DESENVOLVIMENTO E A
PRODUTIVIDADE DO MILHO**

DISSERTAÇÃO

**Teresina, PI
Março de 2010**

FRANCISCO FERREIRA DE LIMA

Bacillus subtilis **E NÍVEIS DE NITROGÊNIO SOBRE O DESENVOLVIMENTO E A
PRODUTIVIDADE DO MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, para a obtenção do Título de Mestre em Agronomia, área de concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo
Co-orientador Prof. Dr. Luis Alfredo Pinheiro Leal Nunes

**Teresina, PI
Março de 2010**

L7326 Lima, Francisco Ferreira
Bacillus subtilis e níveis de nitrogênio sobre o
desenvolvimento e a produtividade do milho / Francisco
Ferreira de Lima – Teresina, 2010.
54 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal).
Orientador: Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo.

Rizobactéria – Zea mays. 2. Produção de grãos. 3.
Nutrição. I. Título.

CDD 633.15

**BACILLUS SUBTILIS E NÍVEIS DE NITROGÊNIO SOBRE O
DESENVOLVIMENTO E A PRODUTIVIDADE DO MILHO**

FRANCISCO FERREIRA DE LIMA
Engenheiro Agrônomo

Aprovado em ___/___/___

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo – Presidente
UFPI/CCA

Prof. Dr. Luis Alfredo Pinheiro Leal Nunes – Titular
UFPI/CCA

Prof. Dr. Marissônia Noronha – Titular
EMBRAPA MEIO-NORTE

Prof. Dr. Romero Francisco Vieira Carneiro – Titular
UFPI/CCA

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vi
SUMMARY	vii
INTRODUÇÃO GERAL	8
REVISÃO DE LITERATURA	10
1. Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas	10
1.1. Bacillus subtilis	11
1.1.1. Bacillus subtilis e o crescimento de plantas	12
2. Cultura do milho	14
3. Adubação nitrogenada em milho	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
CAPÍTULO ÚNICO	27
RESUMO.....	27
ABSTRACT.....	28
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODO	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	41

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me conferir a oportunidade de participar deste mundo com seus mistérios e desafios;

À minha família razão maior da minha existência, por haver me sustentado nos momentos difíceis deste trabalho com uma frase jamais esquecida “Vai pai! Você consegue. DEUS está do teu lado”;

Ao professor Ademir Sérgio Ferreira de Araújo, muito mais que um orientador, um amigo. Ativo participante em todos os momentos deste trabalho;

Ao professor Manoel Ferreira Lima, meu irmão, por estar sempre ao meu lado, incentivando-me;

Ao presidente da APPM, Francisco Macedo Neto, e ao Diretor Geral do EMATER/PI, Francisco Guedes Alcoforado Filho, pelo apoio especial que prestaram a minha pessoa, o que foi importante para realização deste trabalho;

Ao professor Luis Alfredo Pinheiro Leal Nunes, co-orientador deste mestrado, pela forte presença, principalmente nos trabalhos de campo;

Ao médico Edilson Carvalho de Sousa Júnior, pelos incentivos, quase que cotidianos;

Ao professor Paulo Ramalho, um amigo das horas difíceis;

Aos professores Lúcio Flavo, José Airton e Disrraeli Rocha, pelos ensinamentos prestados através de uma didática eficiente;

Ao meu cunhado, José Falcão, torcedor incontestado do meu esforço;

Aos colegas do EMATER José Tadeu, Antonio Borges e Adauto Olímpio, pelo incentivo;

Aos colegas mestrados Sebastião, Iuna, Joseany, Lusiene, Sávio, Thiago, Gersa, Herbert, Jadson, Fernando, Iris, Figueredo, Flávio, Fábio, Renato, Lízio, Simoni, Bruna, Almerinda, Alyne, Elizângela, Floriania, Ítalo, Josynária, Antonio Almeida, Douglas, Fabrício, Lilian, Ruth, Davi, Arraes e João Santos, pelo convívio alegre e saudável;

Aos estudantes graduandos Luciano, Elzane, João Marcos, Fred, Gideam, pela ajuda nas tarefas de campo e de laboratório;

Ao Vicente Sousa e Luis Gomes, secretário e auxiliar do curso de mestrado em agronomia da UFPI, pelo pronto atendimento e respeito aos estudantes.

À minha esposa Maria das Graças.

Aos meus filhos:

Julliano,

Carlos Henrique e

Maria Carolina

À minha nora Michele

À minha neta Camilla Maria

DEDICO

BACILLUS SUBTILIS E NÍVEIS DE NITROGÊNIO SOBRE O DESENVOLVIMENTO E A PRODUTIVIDADE DO MILHO

Autor: Francisco Ferreira de Lima

Orientador: Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo

Co-orientador: Prof. Dr. Luís Alfredo Pinheiro Leal Nunes

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho. O estudo foi conduzido em uma área experimental, no Centro de Treinamento do EMATER, em Teresina, PI. Os tratamentos foram dispostos em um delineamento em blocos ao acaso sob arranjo fatorial de 5 x 2, sendo cinco doses de N (0, 40, 80, 120 e 160 kg N ha⁻¹) e dois tratamentos microbiológicos (com e sem inoculação). No tratamento com inoculação foi utilizado um produto formulado contendo *Bacillus subtilis*, estirpe PRBS-1. O plantio foi realizado em parcela experimental de 3,2 m x 5,0 m e as coletas dos dados foram realizadas aos 52 e 79 dias após a emergência para a avaliação das variáveis: altura das plantas, teor de clorofila, acúmulo de N na parte aérea, e comprimento das espigas despalhadas, massa das espigas despalhadas e produtividade dos grãos secos, respectivamente. Houve efeito significativo para inoculação, doses de N e para a interação inoculação x doses de N sobre todas as variáveis avaliadas, exceto para a altura das plantas. Com a inoculação de *Bacillus subtilis*, houve aumento significativo para leitura de clorofila, acúmulo de N, comprimento das espigas despalhadas, massa das espigas despalhadas e produtividade dos grãos secos. As produtividades de grãos apresentaram valores máximos de 5.374 kg ha⁻¹ para dose de 125,1 kg de N ha⁻¹ e 5.045 kg ha⁻¹ para a dose de 157,6 kg de N ha⁻¹, nos tratamentos com e sem inoculação, respectivamente. A inoculação das sementes com *Bacillus subtilis* proporcionou aumento na produtividade de grãos do milho, reduzindo os custos com adubação nitrogenada.

Palavras-chave: Rizobactéria, *Zea mays*, produção de grãos, nutrição

BACILLUS SUBTILIS AND LEVELS OF NITROGEN ON MAIZE GROWTH AND YIELD

Author: Francisco Ferreira de Lima

Adviser: Prof. Dr. Ademir Sérgio Ferreira de Araújo

Co-adviser: Prof. Dr. Luís Alfredo Pinheiro Leal Nunes

SUMMARY

The aim of this work was to evaluate the effect of inoculation with *Bacillus subtilis* and nitrogen fertilization on maize growth and yield. The experiment was carried out in an agricultural area at EMATER, Teresina, PI. The treatments were disposed in a completely randomized block in factorial design of 5 x 2, consisted of five N levels (0, 40, 80, 120 and 160 kg N ha⁻¹) and two microbiological treatments (with and without inoculation). In the treatment with inoculation, an inoculant was used containing *Bacillus subtilis*, strain PRBS-1. The sowing was carried out in experimental plots of 3.2 m x 5.0 m. The data were collected at 52 and 79 days after emergence to assess the variables: plant height, chlorophyll content, accumulation of N in shoot, and length and mass of ear and yield. There was a significant effect for inoculation, N levels and interaction inoculation x N levels in all the variables, except for plant height. With the inoculation of *Bacillus subtilis*, there was a significant increase for chlorophyll content, accumulation of N in shoot, and length and mass of ear and yield. The yield showed maximum values of 5,374 kg ha⁻¹ for level of 125.1 kg of N ha⁻¹ and 5,045 kg ha⁻¹ for the level of 157.6 kg of N ha⁻¹, in the treatments with and without inoculation, respectively. The inoculation of seeds with *Bacillus subtilis* increased the grain yield of corn, reducing the cost of nitrogen fertilizer.

Key words: Rhizobacteria, *Zea mays*, grain production, nutrition

INTRODUÇÃO GERAL

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) são bactérias que habitam o solo e com frequência são isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas. Entre os gêneros mais estudados destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Serratia*, e *Azotobacter* (ZAADY et al., 1993; RODRÍGUEZ e FRAGA, 1999; ARAÚJO, 2008). A influência destes microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas é ampla, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas, crescimento e produtividade de grãos.

O *Bacillus subtilis* é uma das principais rizobactérias de importância para o aumento do crescimento vegetal. Esta rizobactéria influencia positivamente a germinação, desenvolvimento e rendimento da cultura devido, também, à produção de substâncias promotoras de crescimento e melhoria na nutrição das plantas, principalmente pela solubilização de fósforo, como foi demonstrado por Gaid & Gaur (1991), Srinivasan et al. (1996) e Luz (2001).

Ademais, o *B. subtilis* apresenta um efeito benéfico sobre a nodulação de leguminosas, atua no controle biológico e promove o aumento da produtividade das culturas, principalmente quando associado a outras práticas de manejo, tais como a adubação.

O milho (*Zea mays* L.) é um dos alimentos vegetais mais importantes para a humanidade, devido ao seu elevado valor nutritivo e pelas diversas formas de utilização na alimentação humana e animal, *in natura* e na indústria de alta tecnologia. Entretanto, observa-se baixas produtividades, principalmente, devido ao manejo inadequado ou ausência da adubação nitrogenada.

Apesar do N desempenhar um papel fundamental para cultura do milho, como o incremento na produtividade e elevação do teor protéico, este elemento causa um aumento no

custo de produção (SILVA et al., 2001). Segundo Machado et al. (1998), os fertilizantes nitrogenados representam 75% dos custos da adubação do milho, o que corresponde a cerca de 40% dos custos totais de produção da cultura.

Em virtude da capacidade das RPCPs em liberar substâncias promotoras de crescimento e auxiliar as plantas pelo fornecimento de nutrientes é importante avaliar efeitos positivos dessa bactéria no desenvolvimento do milho e na economia na adubação nitrogenada. Neste sentido há a necessidade de se avaliar o uso de RPCPs para o aumento do desenvolvimento e rendimento das culturas. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com *Bacillus subtilis* associada à adubação nitrogenada no desenvolvimento e produtividade do milho.

REVISÃO DE LITERATURA

1. Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas

Dentre os microrganismos mais pesquisados, destacam-se as comunidades conhecidas como Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCP), termo que vem sendo utilizado para descrever bactérias que podem colonizar a superfície e ou interior de plantas e estimular o crescimento destas quando aplicados em sementes, tubérculos ou raízes (CHANWAY et al., 1991). A possibilidade da sua aplicação nos solos traz benefícios diretos para a produção agrícola e, ao mesmo tempo, uma alternativa de cultivo com menor uso de insumos agrícolas (SCHROTH & HANCOCK, 1982; LAVIE & STOTZKY, 1986). Entre os gêneros mais estudados destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, e *Rhizobium*, *Serratia*, e *Azotobacter* (ZAADY et al., 1993; RODRÍGUEZ & FRAGA; ARAÚJO, 2008).

Os efeitos destes microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e produção de grãos (LAZARETTI & BETTIOL, 1997). Segundo Freitas & Silveira (2007) as RPCPs constituem um grupo muito amplo de bactérias que vivem na rizosfera e afetam benéficamente o crescimento dos vegetais.

A promoção de crescimento das plantas pode ser o resultado da ação de diversos mecanismos, dentre os quais cita-se: a produção de reguladores de crescimento, tais como auxinas (ASGHAR et al., 2002; BORONIN et al., 1993), citocinina (ARKHIPOVA et al., 2005), giberelina (GUTIÉRREZ-MAÑERO et al., 2001; JOO et al., 2004; HOLL et al., 1988), ácido láctico e succínico (YOSHIKAWA, 1993); solubilização de fosfatos minerais (FREITAS & PIZZINATO, 1997) e diminuição na incidência e inibição de crescimento de fitopatógenos.

As RPCPs têm obtido grande aceitação e importância no mundo devido aos seus efeitos positivos sobre o crescimento das plantas. Na última década, significantes aumentos sobre o crescimento e a produtividade de culturas importantes têm sido reportados na inoculação com RPCPs (GUPTA et al., 2000, BISWAS et al., 2000; MARIANO & KLOEPPER, 2000; ASGHAR et al., 2002; VESSEY, 2003; GRAY & SMITH, 2005; SILVA et al., 2006; FIGUEIREDO et al., 2008; ARAÚJO, 2008).

1.1 *Bacillus subtilis*

O gênero *Bacillus* é formado por bactérias em forma de bastonete, Gram positivas, móveis e com formação de endósporos altamente resistentes ao calor. Segundo Buchanan & Gibbons (1975) e Scorthichini et al. (1989), *B. subtilis* caracteriza-se por apresentar catalase (+), crescimento anaeróbico em ágar (-), redução de NO₃ a NO₂ (+), hidrólise do amido (+), produção de ácido a partir de glicose, arabinose e manose (+), crescimento em NaCl a 7% (+), crescimento a 45° C (+), hidrólise de caseína (+) e produção de esporo (+).

Os mecanismos de ação dos isolados do gênero *Bacillus* responsáveis pela promoção do crescimento em plantas, inicialmente podem estar ligados a inibição de fitopatógenos do solo. Entretanto, alguns trabalhos vêm apresentando resultados que sugerem existir uma faixa bem mais ampla quanto aos efeitos dessas bactérias nas plantas.

A promoção de crescimento das plantas mediada por *Bacillus* é realizada por meio de vários mecanismos, como a produção de fitohormônios estimuladores do crescimento (DATTA et al., 1982) , a mobilização do fósforo (FREITAS et al., 1997; DATTA et al., 1982), a produção de sideróforos e antibióticos (LUZ, 1996) , a inibição da síntese de etileno (GLICK et al., 1994), a indução de resistência das plantas contra fitopatógenos (RAMAMOORTHY et al., 2001) e pela eliminação dos microrganismos deletérios e de seus metabólitos tóxicos presentes na zona radicular (LUZ, 1996).

No âmbito da agricultura, existem diversos produtos formulados para o controle biológico de fitopatógenos, tendo como ingrediente ativo espécies do gênero *Bacillus*, como exemplo: *Bacillus thuringiensis* (DIPEL, Abbot Co., USA), *Bacillus sphaericus* (BIOBAC, ICI, Alemanha) e *B. subtilis* (KODIAK, Gustafson Inc., USA). Estes produtos têm sido aplicados em vários países do mundo.

Ganhos na nutrição de plantas inoculadas com *Bacillus* também têm sido destacados como benefício advindo da presença deste grupo de microrganismos na rizosfera. Rodriguez & Fraga (1999) citam que estirpes do gênero *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* estão entre as bactérias com maior potencial de solubilização de fósforo. A solubilização de fosfatos insolúveis mediado por microrganismos está associada ao desprendimento de ácidos orgânicos que são freqüentemente combinados com outros metabólitos, sendo constatado *in vitro* que o potencial de solubilização de P por microrganismos está diretamente relacionado à produção de sideróforos, fitohormônios e enzimas líticas (VASSILEV et al., 2006). Richardson (2000) sugeriu a utilização dos microrganismos do solo como inoculantes para mobilização do fósforo, uma vez que na maioria dos solos este nutriente não se encontra na forma disponível às plantas.

1.1.1 *Bacillus subtilis* e o crescimento de plantas

O efeito benéfico de *B. subtilis*, quando aplicado junto às sementes ou ao solo, não é exclusivamente devido ao antagonismo proporcionado aos patógenos, uma vez que diversos trabalhos têm demonstrado os efeitos positivos desta bactéria, influenciando a germinação, solubilização de nutrientes, crescimento e produtividade das plantas (GAIND & GAUR, 1991; SRINIVASAN et al., 1996; RODRIGUES & FRAGA, 1999; ARAÚJO & HUNGRIA, 1999; LUZ, 2001; ARAÚJO, 2008; ARAÚJO et al., 2010).

Com relação ao controle biológico de fitopatógenos, vários estudos têm destacado *B. subtilis* como um eficiente antagonista (ALDRICH & BAKER, 1970; PUSEY & WILSON, 1984; CUBETA et al., 1985; MCKEEN et al., 1986; BETTIOL & KIMATI, 1990; KREBS et al., 1993; OEDJIJONO et al., 1993; ARAÚJO et al., 2005; DOMENECH et al., 2006). Katz & Demain (1977) citam que *B. subtilis* pode elaborar 66 tipos diferentes de antibióticos, em sua maioria polipeptídeos, com efeito inibitório contra bactérias e fungos patogênicos. Diversos autores citados por Bettioli & Kimati (1990), verificaram *B. subtilis* inibindo: *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia bataticola*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium udum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Macrophomina phaseolina*, *Uromyces phaseoli*, *Alternaria* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Phomopsis* sp., *Pyricularia oryzae*, *Cylindrocadium* sp., dentre outros.

Diversos autores citam efeitos do *B. subtilis* como fitohormônios estimuladores de crescimento das plantas: produção de giberilinas (HOLL et al., 1988), auxinas (BORONIN et al., 1993) e ácidos láctico e succínico (YOSHIKAWA, 1993). Analisando as fontes bacterianas de ácido indol-3-acético (AIA), Loper & Schroth (1986) encontraram duas estirpes de *B. subtilis* produzindo grandes concentrações de AIA (5-10µg/ml), as quais reduziam o alongamento das raízes e aumentavam a proporção de parte aérea / raiz de plantas de beterraba (*Beta vulgaris*), quando aplicadas como inoculantes em sementes desta cultura.

Com relação ao aumento da disponibilidade de nutrientes no solo pela ação de *B. subtilis* foi comprovado maior absorção de nutrientes, como fósforo e nitrogênio, em plantas inoculadas com a rizobactéria nas sementes (ARAÚJO, 2008).

Araujo & Hungria (1999) avaliaram o uso do *B. subtilis* na cultura da soja e observaram que houve um aumento na nodulação e no crescimento das plantas, além de um aumento significativo no rendimento da cultura no campo. Segundo os autores, foi observado que a estirpe de *B. subtilis* utilizada apresentou grande produção de fitohormônios (ácido

indolacético e indolbutírico) e antibióticos durante seu crescimento (ARAUJO et al., 2005). Anteriormente, Siddiqui & Mahmood (1995) observaram que a aplicação de *B. subtilis* aumentou a nodulação e o crescimento do feijão-guandu. Resultados semelhantes também foram observados por Araújo et al. (2010) no aumento da nodulação e do crescimento do feijão-caupi e da leucena.

Trabalhando com milho e algodão em casa de vegetação, Araujo (2008) observou que a inoculação de sementes de milho com *B. subtilis* apresentou potencial para incrementar o crescimento das duas culturas, e sugere a aplicação desta bactéria em condições de campo.

2. Cultura do milho

O milho é caracterizado como planta monocotiledônea, da família das poáceas, cujo ciclo fenológico varia de 90 a 205 dias, dependendo do genótipo e do clima (FAGERIA, 1989; NORMAN et al., 1995; TOLLENAAR & DWYER, 1999). É uma planta C4, muito eficiente na conversão de CO₂, com altas taxas de fotossíntese líquida, mesmo em elevados níveis de luz. É uma das culturas mais antigas do mundo, com indicações de que é cultivado há pelo menos 5.000 anos. No início da colonização da América (século XVI), era cultivado em jardins, até que seu valor alimentício tornar-se conhecido. Passou, então, a ser plantado em escala comercial e difundiu-se por todos os continentes (FAGERIA, 1989; NORMAN et al., 1995; TOLLENAAR & DWYER, 1999).

Em função de seu potencial produtivo, composição química e valor nutritivo, o milho se constitui num dos cereais mais cultivados no mundo, e fonte geradora de milhares de empregos quer seja na atividade agrícola, quer seja como matéria-prima para uma série de produtos industrializados.

Embora seja um produto de grande importância para o agronegócio, praticamente toda a produção brasileira de milho é consumida internamente, sendo que, cerca de 70 a 80% é

destinada à cadeia produtiva de suínos e aves (DUARTE et al., 2006), para o preparo de rações, uma pequena parte vai para a produção de óleo comestível, e o restante é utilizado na fabricação de produtos básicos que compõem a alimentação de um contingente enorme de pessoas, especialmente aquele estrato de baixa renda, localizado no semi-árido nordestino.

Em termos de produção, o Brasil ocupa no cenário mundial, a terceira posição, superado apenas pelos Estados Unidos e pela China. Segundo o United States Department of Agriculture - USDA (2006), no ano agrícola de 2005/06 a produção mundial de milho ficou em torno de 684 milhões de toneladas, tendo sido produzido 282 milhões de toneladas pelos Estados Unidos, 134 milhões pela China e 43 milhões pelo Brasil.

A safra brasileira de milho, em 2007/08, apresentou uma área cultivada com 14,7 milhões de hectares, a produtividade média de 3,97 toneladas por hectare e a produção de aproximadamente 58,7 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2009). Deste total, 90,2% ocorreu na região Centro-Sul, onde a produtividade alcançou 4.717 kg/ha, e o restante (9,8%) na região Norte-Nordeste, onde a produtividade ficou em 1.623 kg/ha. Essa dualidade comportamental que ocorre na lavoura do milho brasileiro é influenciada por uma mesclagem dos diferentes sistemas de cultivos praticados no país, onde um contingente enorme de produtores, por não estar envolvido com a produção comercial, apresenta índices baixíssimos de produtividade, enquanto um grupo menor, se utilizando de uma tecnologia mais avançada, consegue índices bem mais elevados de produtividade.

3. A adubação Nitrogenada no milho

Enquanto nos Estados Unidos a produtividade média da cultura do milho é superior a 10 toneladas por hectare, no Brasil a produtividade média não chega a 4 toneladas por hectare. Dentre os vários fatores que causam essa baixa produtividade, destacam-se o baixo consumo e o manejo incorreto do N, nutriente absorvido em maior quantidade pelo milho, e que mais

influencia na resposta em produtividade de grãos e mais onera no custo de produção da cultura (AMADO et al., 2002).

O nitrogênio é um dos elementos imprescindíveis ao pleno crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas de milho, devido a sua presença na estrutura de um grande número de moléculas essenciais às células, como aminoácidos, proteínas estruturais e enzimáticas, ácidos nucleicos, hormônios, clorofilas.

O suprimento inadequado de N é considerado um dos principais fatores limitantes à produtividade de grãos. Segundo Hoefl (2003), a dose, a época e o método de aplicação de fertilizantes nitrogenados têm efeito marcante, tanto sobre a produtividade das culturas, quanto sobre o potencial de contaminação dos mananciais de água. O manejo da adubação nitrogenada deve suprir a demanda da planta, nos períodos críticos, e minimizar o impacto no ambiente, pela redução de perdas (FERNANDES & LIBARDI, 2007).

Com inúmeras funções relevantes nas suas atividades fisiológicas, a disponibilidade de N afeta diretamente a área foliar, a taxa de fotossíntese, o crescimento do sistema radicular, o tamanho de espigas, o número e a massa de grãos e a sanidade de grãos (PIONNER, 1995). Estima-se que a necessidade de N para a produção de uma tonelada de grãos varie de 20 a 28 kg ha⁻¹ (CANTARELA, 1993). A sua absorção pela planta ocorre durante todo o ciclo vegetativo, sendo pequena nos primeiros 30 dias. Nesta fase, as plantas absorvem menos do que 0,5 kg ha⁻¹ dia (SCHRODER et al., 2000). De acordo com Bull (1993) a maioria dos estudos realizados mostra que os melhores resultados são obtidos com a aplicação de 30 kg de N ha⁻¹ na semeadura e de 90 a 120 kg de N ha⁻¹ entre 30 e 45 dias após a germinação, totalizando entre 120 e 150 kg de N ha⁻¹.

Devido à alta exigência de N, o milho é uma cultura que, geralmente, responde à aplicação da adubação nitrogenada com incrementos em várias características que influenciam na produção final (DA ROS et al., 2003). Resultados de experimentos conduzidos

no Brasil, sob diferentes condições edafoclimáticas, mostram respostas diferenciadas do milho à adubação nitrogenada (COELHO et al., 1992). A magnitude das respostas ao elemento nas condições tropicais tem sido variável e indica respostas significativas a doses de 30 a 100 kg ha⁻¹ (BOQUET et al., 1988; JAKELAITIS et al., 2005). Boquet et al. (1988) afirmaram que o rendimento, a massa de grãos individual, a massa específica, o número de grãos e o conteúdo de proteína no grão de milho aumentaram com o aumento da dose de N aplicada e a dose ótima para todas as densidades testadas foi estimada em 100 kg ha⁻¹.

Experimentos realizados por Muchow (1988) e Wolfe et al. (1988) demonstraram que a adubação nitrogenada aumentou o número de grãos por espiga e a produtividade da cultura, bem como que o fornecimento de nitrogênio promoveu aumentos nos conteúdos foliares de clorofila e de N na cultura do milho. Costa (2000) trabalhou com três doses de nitrogênio (30, 60 e 90 kg ha⁻¹ de N) na semeadura e as mesmas doses em cobertura (30, 60 e 90 kg ha⁻¹ de N) na cultura do milho, e demonstrou que as diferenças entre tratamentos não foram significativas para diâmetro da espiga, tamanho da espiga, número de fileiras por espiga, massa de 100 grãos, altura de plantas, altura de inserção da primeira espiga, nitrato, nitrogênio total e matéria seca total, e foram significativas para diâmetro do colmo e produtividade. Para o parâmetro produtividade, observou-se que a aplicação de 30 kg ha⁻¹ na semeadura e 90 kg ha⁻¹ em cobertura, proporcionou maior produtividade, sendo esta a melhor estratégia de parcelamento da adubação nitrogenada. Mar et al. (2001) avaliaram o efeito de doses (20, 60, 90, 120 e 150 kg ha⁻¹ de N) e épocas de aplicação de nitrogênio na produtividade de grãos de milho safrinha e verificaram efeito significativo de doses e épocas de aplicação de N, obtendo-se a produção máxima (6.549,74 kg ha⁻¹) com a adição de 131,20 kg ha⁻¹ de N, quando as plantas apresentavam-se com oito folhas expandidas e a produtividade de grãos em todos os tratamentos com adição de N foi superior ao tratamento sem adição deste elemento.

Entretanto, alguns trabalhos mostram respostas de até 200 kg ha⁻¹ de N aplicado (MELLO et al., 1988; COELHO & FRANÇA, 1995). De acordo com Bull (1993) a maioria dos estudos realizados mostra que os melhores resultados são obtidos com a aplicação de 30 kg de N ha⁻¹ na semeadura e de 90 a 120 kg de N ha⁻¹ entre 30 e 45 dias após a germinação, totalizando entre 120 e 150 kg de N ha⁻¹.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDRICH, J.; BAKER, R. Biological control of *Fusarium roseum* f. sp. *dianthi* by *Bacillus subtilis*. **Plant Disease Reporter**, v. 54, p. 446-448, 1970.
- AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.241-248, 2002.
- ARAÚJO, ASF; CARNEIRO, RFV. BEZERRA, AAC; ARAÚJO, FF. Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N₂ e o crescimento das plantas. **Ciencia Rural**, v.43, p.182-185, 2010.
- ARAUJO, F. F. HUNGRIA, M.; HENNING, A. A. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p. 1639-1645, 2005.
- ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 2, p. 456-462, 2008.
- ARAUJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*B. elkanii*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1633-1643, 1999.

- ARAUJO, F.F.; HENNING, A.; HUNGRIA, M. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.21, p.1639-1645, 2005.
- ARKHIPOVA, T.N.; VESELOV, S.U.; MELENTIEV, A.I.; MARTYNENKO, E.V.; KUDOYAROVA, G.R. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant and Soil**, v. 272, p. 201–209, 2005.
- ASGHAR, H.N ; ZAHIR, Z. A.; ARSHAD, M ; KHALIQ, A. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 231–237, 2002.
- BETTIOL, W.; KIMATI, H. Efeito de *Bacillus subtilis* sobre *Pyricularia oryzae* agente causal de bruzone do arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.25, p.1165-1174, 1990.
- BISWAS, J. C., LADHA, J. K.; DAZZO, F. B. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. **Agronomy Journal**, v.92, p.880-886, 2000.
- BOER, A.S.; DIDERICHSSEN, B. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.36, p.1-4, 1991.
- BOQUET, D. J.; COCO, A. B.; JOHNSON, C. C. Response of corn to plant density and nitrogen rate. **Annual Progress Report Northeast Research Station and Macon Ridge Research Station**, Winnsboro, p.63-65, 1988.
- BORONIN, A. M. et al. Biological control of soilborne plant pathogens by PGPR *Pseudomonas* isolated in Russia. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 6., 1993, Montreal – Canada. **Anais...** Montreal – Canada: Int. Soc. Path., 1993. p.276,

- BROADBENT, P.; BAKER, K.F.; WATERWORTH, Y. Bacteria and actinomycetes antagonistic to root pathogens in Australian soils. **Australian Journal of Biological Sciences**. v.24, p.925-944, 1971.
- BUCHANAN, R.E.; GIBBONS, N.G. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 8ed. Baltimore-London: The Willians & Wilkens Co., 1975. 1268p.
- BÜLL, L.T. **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba, POTAFOS, 1993. p.148-196.
- CANTARELLA, H. Calagem e adubação do milho. In: BÜLL, L.T. & CANTARELLA, H., eds. **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba, POTAFOS, 1993. p.148-196.
- CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G.; FUHRMANN, J. J. Screening for plant growthpromoting rhizobacteria to promote early soybean growth. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v. 63, p. 1670-1680, 1999.
- COELHO, A. M.; FRANÇA, G.E. **Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1995. 9p.
- COELHO, A.M.; FRANÇA, G.E. de; BAHIA FILHO, A.F.C.; GUEDES, G.A.A. Doses e métodos de aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho sob irrigação. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v.16, p.61-67, 1992.
- COSTA, A.M. Adubação nitrogenada na cultura do milho (*Zea mays* L.) em sistema de plantio direto. Botucatu, 2000. 90p. **Dissertação** (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP.
- CUBETA, M.A.; HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B. Interaction between *Bacillus subtilis* and fungi associated with soybean seeds. **Plant Disease**, v.69, p.506-509, 1985.
- DA ROS, C.O.; SALET, R.L.; PORN, R.L.; MACHADO-CORRÊA, J.N. Disponibilidade de nitrogênio e produtividade de milho e trigo com diferentes métodos de adubação nitrogenada

no sistema plantio direto : **Ciencia Rural** [en línea] 2003, vol. 33 no. 005 [citado 2010-02-01]. Disponible en Internet:

<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=33133502>. ISSN 0103-8478

DATTA, M.; BANIK, S.; GUPTA, K. Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in augmenting paddy yield in acid soils of Nagaland.

Plant and Soil, v.69, p.365-373, 1982.

DOMENECH, J., REDDY, M.S., KLOEPPER, J.W., RAMOS, B. & GUTIERREZ-MAÑERO, J. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne disease in pepper and tomato. **BioControl**, v.51, p.245-258. 2006.

FAGERIA, N. K. **Solos tropicais e aspectos fisiológicos das culturas**. Brasília, DF: EMBRAPA-DPU, 1989. 245 p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 18).

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L. Percentagem de recuperação de nitrogênio pelo milho, para diferentes doses e parcelamentos do fertilizante nitrogenado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 6, n. 3, p. 285-296, 2007.

FIGUEIREDO, M.V.B., MARTINEZ, C.R., BURITY, H.A., CHANWAY, C.P. Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v.24, p.1187-1193.

FREITAS, S. S.; PIZZINATTO, M. A. Ação de rizobactérias sobre a incidência de *Colletotrichum gossypii* e promoção de crescimento em plântulas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Summa Phytopathologica**, v. 23, p. 36-41, 1997.

FREITAS, S.S., SILVEIRA, A. P. D. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Instituto Agronômico de Campinas, SP. p. 2007.

- GAIND, S.; GAUER, A.C. Thermotolerant phosphate solubilizing microorganisms and their interaction with mugbean. **Plant and Soil**, v.133, n.1, p.141-149, 1991.
- GLICK, B.R. et al. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR 12-2 do not stimulate canola root elongation. **Canadian Journal of Microbiology**, v.40, p.911-915, 1994.
- GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p.395-412, 2005.
- GUPTA, A., GOPAL, M.; TILAK, K. V. (2000). Mechanism of plant growth promotion by rhizobacteria. **Indian Journal Experimental Biology**, v.38, p. 856-862, 2000.
- GUTIÉRREZ-MAÑERO, F.J; RAMOS-SOLANO, B.; PROBANZA, A.; MEHOUACHI, J; TADEO, F.R.; TALON, M. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. **Physiologia Plantarum**, v.111, p.206–211, 2001.
- HOEFT, R. G. Desafios para a obtenção de altas produtividades de milho e de soja nos EUA. **Informações Agronômicas**, n. 104, p. 1-4, 2003.
- HOLL, F. B. et al. Response of crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* L.), perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 20, p. 19-24, 1988.
- JAKELAITIS, A.; SILVA, A.A.; FERREIRA, L.R. Efeito do nitrogênio sobre o milho cultivado em consórcio com *Brachiaria brizantha*. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.27, p.39-46, 2005.
- JOO, G.J.; KIM, Y.M; LEE, I.J; SONG, K.S; RHEE, I.K. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. **Biotechnology Letters**, v.26, p.487-491, 2004.

- KATZ, E.; DEMAIN, A.L. The peptide antibiotics of *Bacillus*: Chemistry, biogenesis and possible functions. **Bacteriological Reviews**, v.41, p.449-474, 1977.
- KILIAN, M.; STEINER, U.; KREBS, B.; JUNGE, H.; SCHMIEDEKNECHT, G.; HAIN, R. FZB24® *Bacillus subtilis* – mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer**, 1, 172–93, 2000.
- LAVIE, S.; STOTZKY, G. Interactions between clay minerals and siderophores affect the respiration of *Histoplasma capsulatum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 51, p. 74-79, 1986.
- LAZZARETI E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientiae agricola**, Piracicaba, v. 54, p. 89-96, 1997.
- LUZ, W.C. Efeito da microbiolização de sementes no rendimento e controle da podridão comum nas raízes e de patógenos das sementes de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, p.144-148, 1994.
- LUZ, W.C. Efeito de bioprotetores em patógenos de sementes e na emergência e rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.1, p.16-20, 2001.
- LUZ, W.C. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W. C. et al. (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: RAPP, 1996. p.1-49.
- MACHADO, A.T.; SODEK, L.; DÖBEREINER, J.; REIS, V.M. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p.961-970, 1998.
- MAR, G.D., MARCHETTI, M.E., SOUZA, L.C.F., NOVELINO, J.O. GONÇALVES, M.C. Efeito de doses e épocas de aplicação de nitrogênio no milho safrinha. In: CONGRESSO

- BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 28, 2001, Londrina. **Resumos**. Londrina, 2001. EMBRAPA/IAPAR/UEL/UEM, p.179.
- MARIANO, R. L. R.; KLOEPPER, J. W. (2000). Método alternativo de biocontrole: Resistência sistêmica induzida por rizobactérias. *Rev Anual Patol Plantas*, 8, 121-137.
- MCKEEN, C. D.; REILLY, C. C.; PUSEY, P. L. Production and partial characterization of antifungal substances antagonistic to *Monilinia fructicola* from *Bacillus subtilis*. **Phytopathology**, v. 76, p. 136-139, 1986.
- MELLO, F. A. F.; ARZOLA, S.; KICHL, J. C.; BRITO NETO, J. Efeito das doses e modos de aplicação de uréia na produção de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 12, p. 269-274, 1988.
- MUCHOW, R.C. Effect of nitrogen supply on the comparative productivity of maize and sorghum in a semi-arid tropical environment I. Leaf growth and leaf nitrogen. **Field Crops Research**, v.18, p.1-16, 1988.
- NORMAN, M. J. T.; PEARSON, C. J.; SEARLE, P. G. E. **The ecology of tropical food crops**. 2. ed. Melbourne: Cambridge University Press, 1995. 430 p.
- OEDIJONO, M.; LINE, M.A.; DRAGAR, C. Isolation of bacteria antagonistic to a range of plant pathogenic fungi. **Soil Biology and Biochemistry**, v.25, p.247-250, 1993.
- PIONNER. Efeitos do nitrogênio. **Revista Área Polo**, São Paulo, v. 5, n. 11, p. 12-6, 1995.
- PUSEY, P.L.; WILSON, C.L. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. **Plant Disease**, v.68, p.753-756, 1984.
- RAAIJMAKERS, J.M; WELLER, D.M; THOMASHOW, L.S. Frequency of Antibiotic-Producing *Pseudomonas* spp. in Natural Environments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 3, p. 881-887, 1997.

- RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, p. 1-11, 2001.
- RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, Canberra, v. 28, n. 9, p. 897-906, 2000.
- RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v. 17, p. 319-339, 1999.
- RYU, C.; HU, C.; LOCY, R.D.; KLOEPPER, J. Study of mechanism for plant growth promotion elicited by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana*. **Plant and soil**, v.268, p.285-292, 2005.
- SCHRODER, E.P.; PINTO, J.J.O.; BAPTISTA da SILVA, J. et al. Avaliação de pulverizações aéreas dos herbicidas sulfosate e glyphosate. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000, Foz do Iguaçu, **Resumos...** Foz do Iguaçu, PR: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas daninhas, 2000, p.478.
- SCHROTH, M.N.; HANCOCK, J.G. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. **Science**, v. 216, p. 1376-1381, 1982.
- SCORTHICHINI, M.; ROSSI, M.P., RICCI, B.; NOZOUNBA, B. Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seed decay association with *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, in Gabon. **FAO Plant Protection Bulletin**, v.2, p.87-91, 1989.
- SIDDIQUI, Z.A., MAHMOOD, I. Biological control of *Heterodera cajani* and *Fusarium udum* by *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* and *Glomus fasciculatum* on "pigeonpea". **Fundamental Applied Nematology**, v.18, p.559-566, 1995.

- SILVA, V. N., SILVA, L. E. S. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Atuação de rizóbios com rizobactérias promotora de crescimento em plantas na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Acta Scientiarum Agronomy**, v.28, p. 407-412, 2006.
- SRINIVASAN, M.; PETERSEN, D.J.; HOLL, F.B. Influence of indoleacetic acid producing *Bacillus* isolates on the nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* under gnotobiotic conditions. **Canadian Journal of Microbiology**, v.42, n.10, p.1006-1014, 1996.
- TOLLENAAR, M.; DWYER, L. M. Physiology of maize. In: SMITH, D. L.; HAMEL, C. (Ed.). **Crop yield, physiology and processes**. Berlin: Springer-Verlag, 1999. cap. 5. p.169-201
- VASSILEV, N.; VASSILEVA, M.; NIKOLAEVA, I.. Simultaneous p-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potential and future trends. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.71, p.137-134, 2006.
- VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant & Soil** v.255, p.571-586, 2003.
- WOLFE, D.W., HENDERSON, D.W., HSIAO, T.C., ALVINO, A. Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize. I. Leaf area duration, nitrogen distribution, and yield. **Agronomy Journal**, v.80, p.859-864, 1988.
- YOSHIKAWA, M. Succinic and lactic acids as plant growth promoting compounds produced by rhizosphere *Pseudomonas putida*. **Canadian Journal of Microbiology**, 39, p. 1150-1154, 1993.

CAPÍTULO ÚNICO

***Bacillus subtilis* e níveis de nitrogênio sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho**

***Bacillus subtilis* and levels of nitrogen on maize growth and yield**

Francisco Ferreira de Lima^I Luciano Moura Lima^{II}; Luís Alfredo Pinheiro Leal

Nunes^{II} Ademir Sérgio Ferreira de Araújo^{II}; Fábio Fernando de Araújo^{III}

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com *Bacillus subtilis* e da adubação nitrogenada sobre o desenvolvimento e a produtividade do milho. O estudo foi conduzido em uma área experimental, no Centro de Treinamento do EMATER, em Teresina, PI. Os tratamentos foram dispostos em um delineamento em blocos ao acaso sob arranjo fatorial de 5 x 2, sendo cinco doses de N (0, 40, 80, 120 e 160 kg N ha⁻¹) e dois tratamentos microbiológicos (com e sem inoculação). No tratamento com inoculação foi utilizado um produto formulado contendo *Bacillus subtilis*, estirpe PRBS-1. O plantio foi realizado em parcela experimental de 3,2 m x 5,0 m e as coletas dos dados foram realizadas aos 52 e 79 dias após a emergência para a avaliação das variáveis altura das plantas, teor de clorofila, teor de nitrogênio, e comprimento das espigas despalhadas, massa das espigas despalhadas e produtividade dos grãos secos, respectivamente. Houve efeito significativo para inoculação,

^I Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI.

^{II} Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Campus da Socopo, 64000-000, Teresina, PI. E-mail: asfaruaj@yahoo.com.br. Autor para correspondência.

^{III} Universidade do Oeste Paulista, Campus II, 19050-920, Presidente Prudente, SP.

doses de N e para a interação inoculação x doses de N sobre todas as variáveis avaliadas, exceto para a altura das plantas. Houve aumento significativo para o teor de N e a leitura de clorofila com a inoculação de *Bacillus subtilis*. As produtividades de grãos apresentaram valores máximos de 5.374 kg ha⁻¹ para dose de 125,1 kg de N ha⁻¹ e 5.045 kg ha⁻¹ para a dose de 157,6 kg de N ha⁻¹, nos tratamentos com e sem inoculação, respectivamente. A inoculação das sementes com *B.subtilis* proporcionou aumento na produtividade de grãos do milho, reduzindo os custos com adubação nitrogenada.

Palavras-chave: Rizobactéria, *Zea mays*, produção de grãos, nutrição

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effect of inoculation with *Bacillus subtilis* and nitrogen fertilization on maize growth and yield. The experiment was carried out in an agricultural area at EMATER, Teresina, PI. The treatments were disposed in a completely randomized block in factorial design of 5 x 2, consisted of five N levels (0, 40, 80, 120 and 160 kg N ha⁻¹) and two microbiological treatments (with and without inoculation). In the treatment with inoculation, an inoculant was used containing *Bacillus subtilis*, strain PRBS-1. The sowing was carried out in experimental plots of 3.2 m x 5.0 m. The data were collected at 52 and 79 days after emergence to assess the variables: plant height, chlorophyll content, accumulation of N in shoot, and length and mass of ear and yield. There was a significative effect for inoculation, N levels and interaction inoculation x N levels in all the variables, except for plant height. With the inoculation of *Bacillus subtilis*, there was a significant increase for chlorophyll content, accumulation of N in shoot, and length and mass of ear and yield. The yield showed maximum values of 5,374 kg ha⁻¹ for level of 125.1 kg of N ha⁻¹ and 5,045 kg ha⁻¹ for the level of 157.6 kg of N ha⁻¹, in the treatments with and without

inoculation, respectively. The inoculation of seeds with *Bacillus subtilis* increased the grain yield of corn, reducing the cost of nitrogen fertilizer.

Key words: Rhizobacteria, *Zea mays*, grain production, nutrition

INTRODUÇÃO

As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs) são bactérias que habitam o solo e com frequência são isoladas da rizosfera de diversas plantas cultivadas. A possibilidade da sua aplicação nos solos traz benefícios diretos para a produção agrícola e, ao mesmo tempo, uma alternativa de cultivo com menor uso de insumos agrícolas (LAVIE & STOTZKY, 1986). Os efeitos destes microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos desde a germinação de sementes até a produção de grãos (LAZARETTI & BETTIOL, 1997).

A promoção de crescimento das plantas pode ser o resultado de diversos mecanismos, dentre os quais a produção de reguladores de crescimento como: auxinas (ASGHAR et al., 2002), citocininas (ARKHIPOVA et al., 2005) e giberelinas (JOO et al., 2004); a solubilização de fosfatos minerais (FREITAS & PIZZINATTO, 1997) e o controle biológico na rizosfera (ARAÚJO, 2008). Entre os gêneros de RPCPs mais estudados destacam-se: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Serratia*, e *Azotobacter* (ZAADY et al., 1993; RODRÍGUEZ e FRAGA, 1999; ARAÚJO, 2008).

A bactéria *Bacillus subtilis* é uma das principais RPCPs de importância para a promoção do crescimento vegetal. Atuando para este fim por meio de vários mecanismos, como a produção de fitohormônios estimuladores do crescimento (DATTA et al., 1982), produção de sideróforos e antibióticos (HARMAN et al., 2004) e indução de resistência das plantas contra fitopatógenos (RAMAMOORTHY et al., 2001).

O milho (*Zea mays* L.) é um dos alimentos vegetais mais importantes para a humanidade, devido ao seu elevado valor nutritivo e pelas diversas formas de utilização na alimentação humana e animal. Apesar de o Brasil ser o terceiro maior produtor mundial, sua produtividade média é considerada baixa, não chegando a 4,0 t por ha. Segundo Oliveira et al. (2009), uma das principais causas é a pouca disponibilidade de nutrientes no solo, principalmente nitrogênio.

Apesar do N desempenhar um papel no aumento da produtividade do milho, este elemento causa um acréscimo no custo de produção (SILVA et al., 2001). Segundo Machado et al. (1998), os fertilizantes nitrogenados representam 75% dos custos da adubação do milho, o que corresponde a cerca de 40% dos custos totais de produção da cultura.

Em virtude da capacidade das RPCPs em liberar substâncias promotoras de crescimento e auxiliar o fornecimento de nutrientes para as plantas, pode haver efeitos positivos no desenvolvimento do milho e uma economia na adubação nitrogenada. Estudo recente mostrou que a inoculação das sementes com produto à base de *Azospirillum spp* aumentou significativamente a produtividade média de grãos e o comprimento das espigas de milho (CAVALLET et al., 2000).

Neste sentido, a inoculação das sementes com produto à base de *Bacillus subtilis* pode favorecer o desenvolvimento e a produtividade do milho, reduzindo a quantidade de fertilizante nitrogenado na cultura. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da inoculação com *Bacillus subtilis* associada à adubação nitrogenada no desenvolvimento e produtividade do milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na área agrícola do Centro de Treinamento do Instituto de Assistência Técnica e Extensão Rural do Piauí – EMATER/PI, localizado no município de

Teresina, Estado do Piauí, cujas coordenadas geográficas são 05° 03' 35" de latitude sul, 42°42' 18" de longitude oeste e, 108 m de altitude. O solo do local é classificado como Latossolo Amarelo mesotrófico de fertilidade média, com uma granulometria de 780, 80 e 140 g kg⁻¹ de areia, argila e silte, respectivamente, indicando tratar-se de um solo arenoso. O clima é do tipo Aw', tropical chuvoso, de acordo com a classificação de Koppen. A precipitação média anual é de aproximadamente 1380 mm; a temperatura média anual é de 28°C e umidade relativa do ar gira em torno em torno de 70 %.

As características químicas do solo antes da instalação do experimento foram: pH(H₂O) = 6,4; M.O. = 14,6 g kg⁻¹; P = 17 mg dm⁻³; K = 50,8 mg dm⁻³; Ca = 2,4 cmol_c dm⁻³; Mg = 0,6 cmol_c dm⁻³ e CTC potencial = 6,77 cmol_c dm⁻³, determinadas segundo métodos locais do Laboratório de Solo e Água da Embrapa Meio Norte. O solo foi preparado por meio de aração e gradagem leve e recebeu adubação mineral com P e K utilizando-se 80 kg ha⁻¹ de P₂O₅, na forma de superfosfato simples, e 60 kg ha⁻¹ de K₂O, na forma de cloreto de potássio. Os tratamentos foram dispostos em um delineamento em blocos ao acaso sob arranjo fatorial de 5 x 2, sendo cinco doses de N na forma de uréia (0, 40, 80, 120 e 160 kg N ha⁻¹) e dois tratamentos microbiológicos (com e sem inoculação de *Bacillus subtilis*). As doses foram parceladas em três vezes (no plantio e em duas coberturas aos 25 e 40 dias após a emergência). A semente utilizada foi AG 1051, híbrido duplo, de ciclo normal. No tratamento com inoculação foi utilizado um produto formulado em pó contendo o isolado PRBS-1 (ARAÚJO, 2008) na concentração de 1,0.10⁹ esporos g⁻¹. A inoculação foi feita utilizando-se uma solução açucarada a 1% para servir como aderente para o inoculante que foi aplicado na dose de 500 g de inoculante para 50 kg de sementes.

A parcela experimental teve dimensões de 3,2 m x 5,0 m e constou de quatro fileiras de 5,0 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 25 covas por fileira, onde foram colocadas duas sementes por cova. O desbaste foi feito aos dez dias após o plantio, deixando-se uma planta por cova. A irrigação por aspersão, via sistema convencional, com turno de rega diário, foi realizada utilizando uma lâmina d'água crescente com o desenvolvimento das plantas, atingindo-se lâminas d'água da ordem de 8 mm diários.

As avaliações foram realizadas aos 52 e 79 DAE (dias após a emergência). Aos 52 DAE avaliou-se a altura das plantas (tomando-se como base a distância da superfície do solo até a extremidade do pendão), o teor de clorofila nas folhas (utilizando-se medidor portátil de clorofila, ClorofiLOG e o teor de nitrogênio. O N total foi determinado pelo método semi-microkjeldahl (SILVA, 1981) e utilizado para se calcular o N acumulado na parte aérea (ANPA). O ANPA foi calculado multiplicando-se sua massa pelo teor de N. A leitura de clorofila foi realizada na nonagésima folha totalmente expandidas (SILVA et al., 2003), sendo os pontos de leitura situados a partir da base, na metade a dois terços do comprimento da folha amostrada, e a 2 cm de uma das margens da folha.

Aos 79 DAE foi realizada a colheita, tomando como área útil as duas linhas centrais, eliminando 0,5 m nas extremidades. As variáveis avaliadas foram o comprimento das espigas despalhadas (determinado em dez espigas tomadas ao acaso na parcela), massa das espigas despalhadas (g por espiga) e produtividade de grãos secos (resultado em $t\ ha^{-1}$ de grãos a 13% de umidade). Os dados coletados foram submetidos a análise de variância e análise de regressão. O programa estatístico utilizado foi o SAS (Statistical Analysis System).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou que houve efeito significativo ($P < 0,05$) para inoculação (I), doses de N (N) e para a interação inoculação x doses de N (I x N) sobre todas as variáveis avaliadas (Tabela 1). A exceção deveu-se à altura aos 52 DAE, onde houve efeito

apenas na dose de N. Os resultados indicam que a resposta do milho à adubação nitrogenada, medidas pelas variáveis teor de N, leitura de clorofila e pelos componentes de produtividade são dependentes da inoculação com *Bacillus subtilis*.

A análise de regressão mostrou uma resposta quadrática para a altura das plantas aos 52 DAE nos tratamentos sob diferentes doses de N mineral (Figura 1). Os valores máximos observados, para altura das plantas, foram de 2,36 m para as doses aplicadas de 110 kg ha⁻¹ de N sem inoculação de *Bacillus subtilis*.

Os resultados indicam respostas positivas no crescimento do milho pela adubação nitrogenada, conforme observado em outros trabalhos (MENDONÇA et al., 1999; ARAÚJO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2009), e estão de acordo com os obtidos por OLIVEIRA et al. (2009), que encontraram altura máxima do milho na dose de 100 kg ha⁻¹ de N.

Segundo Cavallet et al. (2000), plantas muito altas podem apresentar efeitos negativos ligados ao tombamento e, por outro lado, a altura de plantas não tem uma correlação significativa com a produtividade de grãos.

Em relação ao teor de N, a análise de regressão mostrou uma resposta quadrática para os tratamentos com e sem inoculação, em função das doses de N mineral (Figura 2a). Para o tratamento com inoculação, o teor de N apresentou valor máximo de 2,7 % na dose de 142 kg ha⁻¹ de N. Para o tratamento sem inoculação, a análise de regressão mostrou que o teor de N apresentou valor máximo de 2,4 % na dose de 156 kg N ha⁻¹.

Os resultados mostram respostas do milho ao teor de N pela adubação nitrogenada, bem como um efeito positivo da interação o *B. subtilis* e o teor de N para o milho. Estes resultados sugerem efeitos benéficos da bactéria na assimilação de nitrogênio (DIDONET et al., 1996) e no aumento da superfície de absorção das raízes (SALOMONE & DÖBEREINER, 1996). Resultados semelhantes no aumento do teor de N nas folhas de plantas inoculadas com *Bacillus* foram observados por Araújo (2008), o qual verificou que a

inoculação de *B. subtilis* em milho aumentou o teor de N nas folhas em aproximadamente 150% quando comparado com a testemunha. Ainda segundo o mesmo autor, o incremento no teor de N no tecido foliar demonstra que existe alguma influencia microbiana na disponibilização deste nutriente para a planta. Dourado Neto et al. (2004) relatou que na rizosfera um dos fatores que aumentam a mobilização de nutrientes vegetais está relacionado com a presença do hormônio vegetal citocinina. Estudos realizados já comprovaram que rizobactérias produzem este hormônio na rizosfera (CACCIARI et al., 1989).

Para os tratamentos com e sem inoculação, a leitura da clorofila apresentou um valor máximo estimado pela equação de 53,5 na dose de 121 kg ha⁻¹ de N e 48,7 na dose de 119 kg N ha⁻¹, respectivamente (Figura 2b).

Os resultados da leitura de clorofila reforçam que a adubação nitrogenada melhorou o nível nutricional de nitrogênio (N) no milho, devido ao fato da quantidade desse pigmento correlacionar-se positivamente com teor de N na planta (SILVA et al., 2003). Entretanto, observa-se um efeito positivo da inoculação para incrementar o conteúdo deste pigmento na folha. Esta tendência de maior conteúdo de clorofila está relacionada ao aumento da absorção de N observada anteriormente. Os resultados reforçam o efeito do *B. subtilis* no desenvolvimento do milho e na promoção de maior capacidade fotossintética da planta.

Para a massa da espiga, houve resposta quadrática para os tratamentos com e sem inoculação, e a adubação nitrogenada. Os valores máximos observados foram de 183,6 e 150,5 g nas doses de 243,3 e 204,3 kg ha⁻¹ de N, para os tratamentos com e sem inoculação respectivamente (Figura 3a).

Em relação ao comprimento da espiga, os resultados demonstram efeito positivo para ambos os tratamentos, com e sem inoculação, conjuntamente com a adubação nitrogenada, sendo que os valores máximos observados foram de 16,2 e 15,9 cm nas doses de 125 e 158 kg ha⁻¹ de N, respectivamente (Figura 3b).

Os resultados para o tamanho da espiga, medidos pelo seu comprimento e sua massa, indicam efeito positivo da inoculação e adubação nitrogenada na cultura. Em outros trabalhos, também foi observado aumento na massa das espigas, em função de doses de N (MEDEIROS & SILVA, 1983; SANGOI & ALMEIDA, 1994). Para o comprimento da espiga, estes resultados concordam com os observado por Cavallet et al. (2000), que obtiveram crescimento significativo no comprimento de espigas nos tratamentos onde foi inoculado um produto à base de *Azospirillum*. Este mesmo autor encontrou correlação positiva entre o comprimento da espiga e a produtividade de grãos.

Quanto à produtividade de grãos secos observou-se resposta quadrática nos tratamentos com e sem inoculação em relação às doses de N (Figura 4). Através das derivações das equações de regressão obtiveram-se produções máximas de 5.374 kg ha⁻¹ para dose de 125,1 kg de N ha⁻¹ e 5.045 kg ha⁻¹ para a dose de 157,6 kg de N ha⁻¹, nos tratamentos com e sem inoculação, respectivamente. O nitrogênio destaca-se como um elemento essencial ao pleno crescimento, desenvolvimento e produtividade da cultura do milho, uma vez que participa da estruturação dos aminoácidos, substâncias presentes na constituição das proteínas. A formação dos grãos é influenciada pela presença de proteínas na planta, assim sendo, a produção de milho depende o suprimento de N (YAMADA, 1997)

Estes dados evidenciam que a inoculação com *B. subtilis* pode complementar a adubação nitrogenada na cultura do milho, permitindo redução nas doses de adubos nitrogenados, sem perdas na produtividade de grãos. Resultados semelhantes foram obtidos por Cavallet et al. (2000) avaliando a aplicação de nitrogênio e a inoculação por *Azospirillum* em milho.

A maior produção apresentada no tratamento com inoculação indica que a bactéria utilizada foi eficiente na promoção do crescimento das plantas, aumentando a produção da cultura. Este resultado é de grande importância, pois vislumbra a possibilidade de utilização de inoculante biológico, à base de *B. subtilis*, uma vez que a produtividade média encontrada

na região Nordeste situa-se em torno de 1.250 kg ha⁻¹ (CARDOSO et al., 2003). Além disso, indica uma economia na ordem 32,5 kg de N por hectare com a simples técnica de inoculação, o que representa um ganho de renda para o produtor.

CONCLUSÃO

O milho apresenta respostas positivas às doses de N, para o desenvolvimento e produtividade de grãos.

A inoculação das sementes com *Bacillus subtilis* proporciona aumento na produtividade de grãos de milho, com redução do requerimento em adubação nitrogenada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIR, H. G.; SHAMSUDDIN, Z. H.; HALIMI, M. S.; RAMLAN, M. F.; MARZIAH, M. N₂ fixation, nutrient accumulation and plant growth promotion by rhizobacteria in association with oil palm seedlings. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 6, p. 1269-1272, 2003.

ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostra e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e agrotecnologia**, v. 2, p. 456-462, 2008.

ARAÚJO, L.A.N.; FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. Adubação nitrogenada na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p.771-777. 2004.

ARKHIPOVA, T.N.; VESELOV, S.U.; MELENTIEV, A.I.; MARTYNENKO, E.V. ;. KUDOYAROVA, G.R. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant and Soil**, v. 272, p. 201–209, 2005.

- ASGHAR, H.N ; ZAHIR, Z. A.; ARSHAD, M ; KHALIQ, A. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 231–237, 2002.
- CACCIARI, I.; LIPPI, D.; PIETROSANTI, T.; PIETROSANTI, W. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. **Plant and Soil**, v.115, p.151-153, 1989.
- CARDOSO, MJ, CARVALHO, H.W.L.; SANTOS, M.X.; LEAL, M.L.S.; OLIVEIRA, A.C. Desempenho de híbridos de milho na região meio-norte do Brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.2, p.43-52, 2003.
- CAVALLET, L.E.; PESSOA, A.C.S.; HELMICH, J.J.; HELMICH, P.R.; OST, C.F. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum spp.* **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, p.129-132, 2000.
- DATTA, M.; BANIK, S.; GUPTA, K. Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in augmenting paddy yield in acid soils of Nagaland. **Plant and Soil**, v.69, p.365-373, 1982.
- DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.16, n.9, p.645-651, 1996.
- DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A. ; VIEIRA JÚNIOR, P. A. ; MANFRON, P. A. ; MARTIN, T. N. ; BONNECARRÈRE, R. A. G. ; CRESPO, P. E. N. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 11, p. 93-102, 2004.

- OLIVEIRA, F.A.; CAVALCANTE, L.F.; SILVA, I.F.; PEREIRA, W.E.; OLIVEIRA, J.C.; FILHO, J.F.C. Crescimento do milho adubado com nitrogênio e fósforo em um Latossolo Amarelo **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** v.4, p.238-244, 2009
- FREITAS, S. S.; PIZZINATTO, M. A. Ação de rizobactérias sobre a incidência de *Colletotrichum gossypii* e promoção de crescimento em plântulas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Summa Phytopathologica**, v. 23, p. 36-41, 1997.
- HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews – Microbiology**, v. 2, p. 43-55, 2004.
- JOO, G.J.; KIM, Y.M; LEE, I.J; SONG, K.S; RHEE, I.K. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilus*. **Biotechnology Letters**, v.26, p.487-491, 2004.
- LAVIE, S.; STOTZKY, G. Interactions between clay minerals and siderophores affect the respiration of *Histoplasma capsulatum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 51, p. 74-79, 1986.
- LAZZARETI E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientiae agricola**, v. 54, p. 89-96, 1997.
- MACHADO, A.T.; SODEK, L.; DÖBEREINER, J.; REIS, V.M. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p.961-970, 1998.
- MEDEIROS, J.S.; SILVA, P.R.F. Efeitos de níveis de nitrogênio e densidade de plantas sobre o rendimento de grãos e outras características agrônômicas de duas cultivares de milho. **Agronomia Sul Rio Grandense**, v.11, p.227-249,1983.

- MENDONÇA, F.C.; MEDEIROS, R.D.; BOTREL, T.A.; FRIZZONE, J.A. Adubação nitrogenada do milho em um sistema de irrigação por aspersão em linha. **Scientia Agrícola**, v.56, p.1151-1155, 1999
- RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAN, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v.20, p. 1-11, 2001.
- RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, v. 17, p. 319-339, 1999.
- SALOMONE, G.; DÖBEREINER, J. Maize genotypes effects on the response to *Azospirillum* inoculation. **Biology Fertilizer Soils**, v.21, p.193-196, 1996.
- SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio para a cultura do milho num solo com alto teor de matéria orgânica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, p.20-22, 1994.
- SILVA, E.C.; SILVA, S.C.; BUZZETTI, S.; TARSITANO, M.A.A. & LAZARINI, E. Análise econômica do estudo de níveis e épocas de aplicação de nitrogênio na cultura de milho no sistema plantio direto em solo de cerrados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ADMINISTRAÇÃO RURAL, 5., Goiânia, 2001. Anais. Goiânia, ABAR, 2001. CD-ROM.
- SILVA, E. C.; FERREIRA, S. M.; SILVA, G. P.; ASSIS, R. L.; GUIMARÃES G. L. Épocas e formas de aplicação de nitrogênio no milho sob plantio direto em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v.29, p.725-733, 2005.
- SILVA, T.R.B.; ARF, O.; SORATTO, R.P. Adubação nitrogenada e resíduos vegetais no desenvolvimento do feijoeiro em sistema de plantio direto. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.25, p.81-87, 2003.

YOSHIKAWA, M. Succinic and lactic acids as plant growth promoting compounds produced by rhizosphere *Pseudomonas putida*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 1150-1154, 1993.

ZAADY, E.; PEREVOLOTSKY, A.; OKON, Y. Promotion of plant growth by inoculum with aggregated and single cell suspensions *Azospirillum brasilense* Cd. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v. 25, p. 819-823, 1993.

ANEXOS

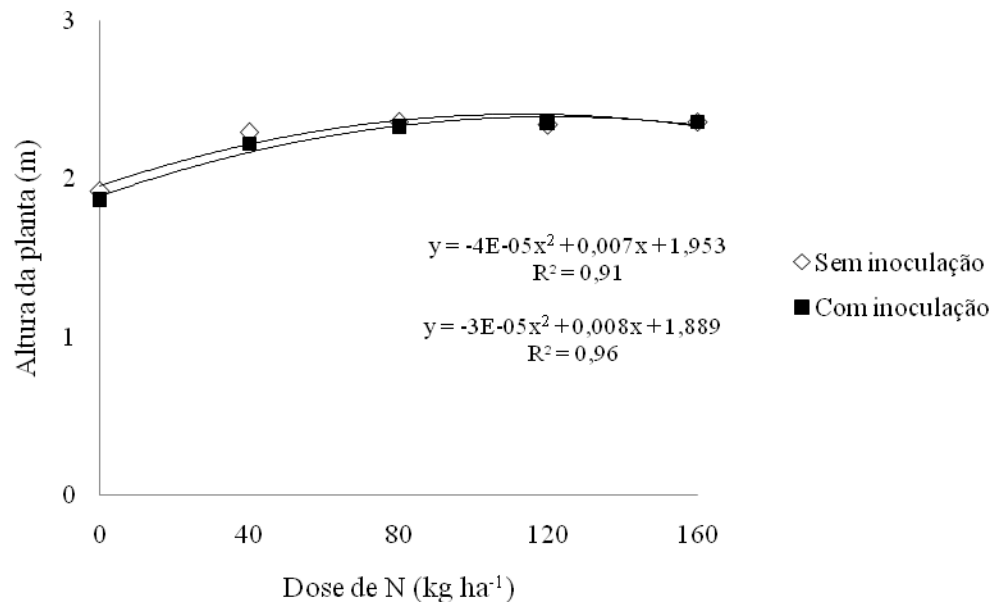
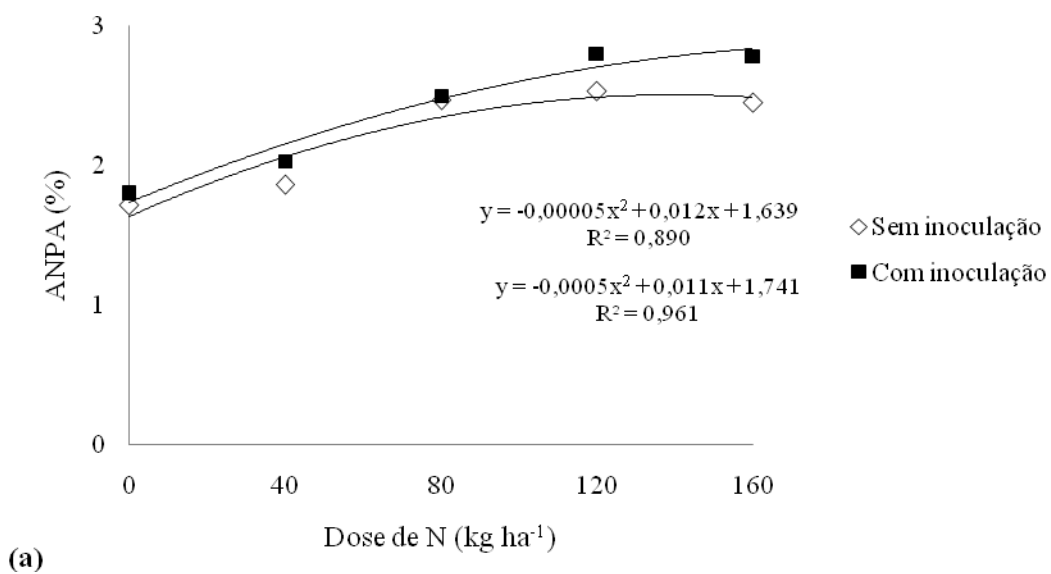


Figura 1. Altura das plantas de milho com (■) e sem (◇) inoculação de *Bacillus subtilis* e cultivado em solo sob diferentes níveis de N. Aos 50 dias após a emergência.



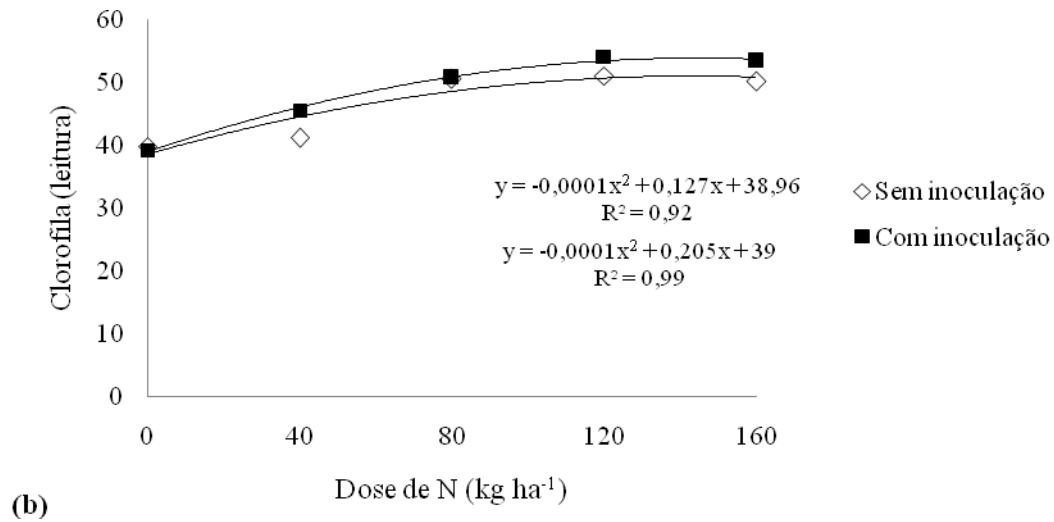
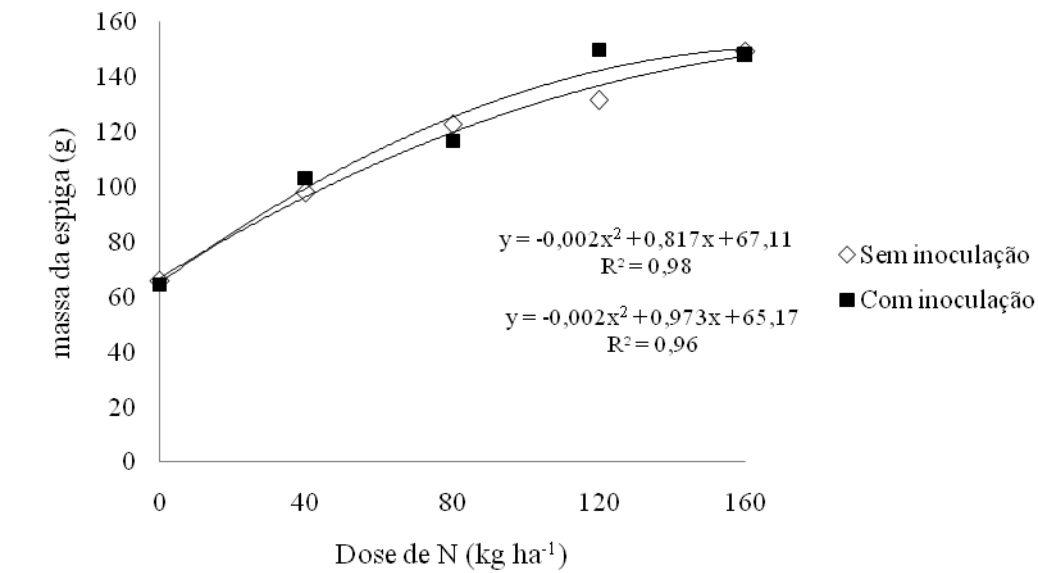
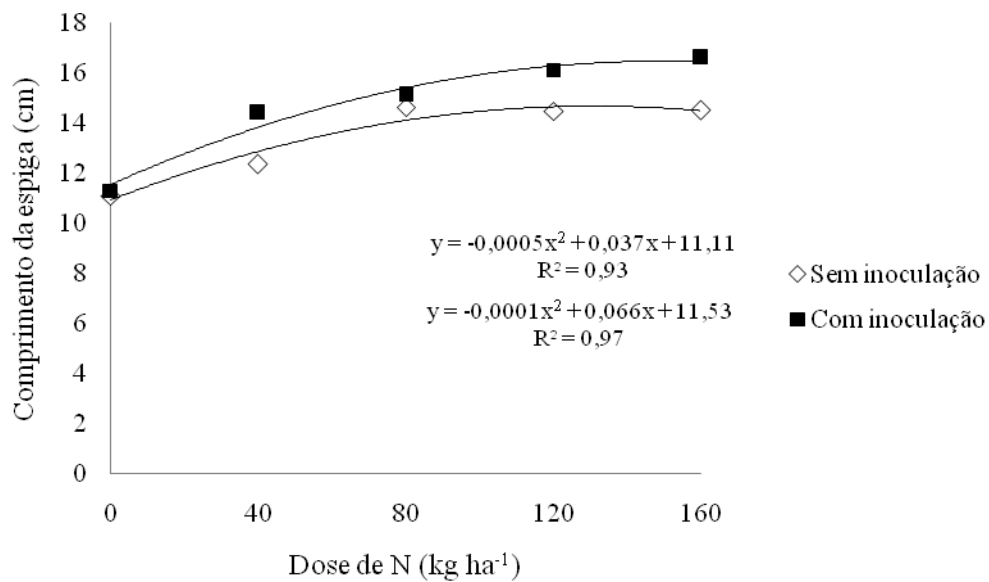


Figura 2. Acúmulo de N na parte aérea (ANPA) (a) e leitura de clorofila (b) de milho com (■) e sem (◇) inoculação de *Bacillus subtilis* e cultivado em solo sob diferentes níveis de N. Aos 50 dias após a emergência.



(a)



(b)

Figura 3. Massa (a) e comprimento (b) da espiga de milho com (■) e sem (♦) inoculação de *Bacillus subtilis* e cultivado em solo sob diferentes níveis de N. Aos 76 dias após a emergência.

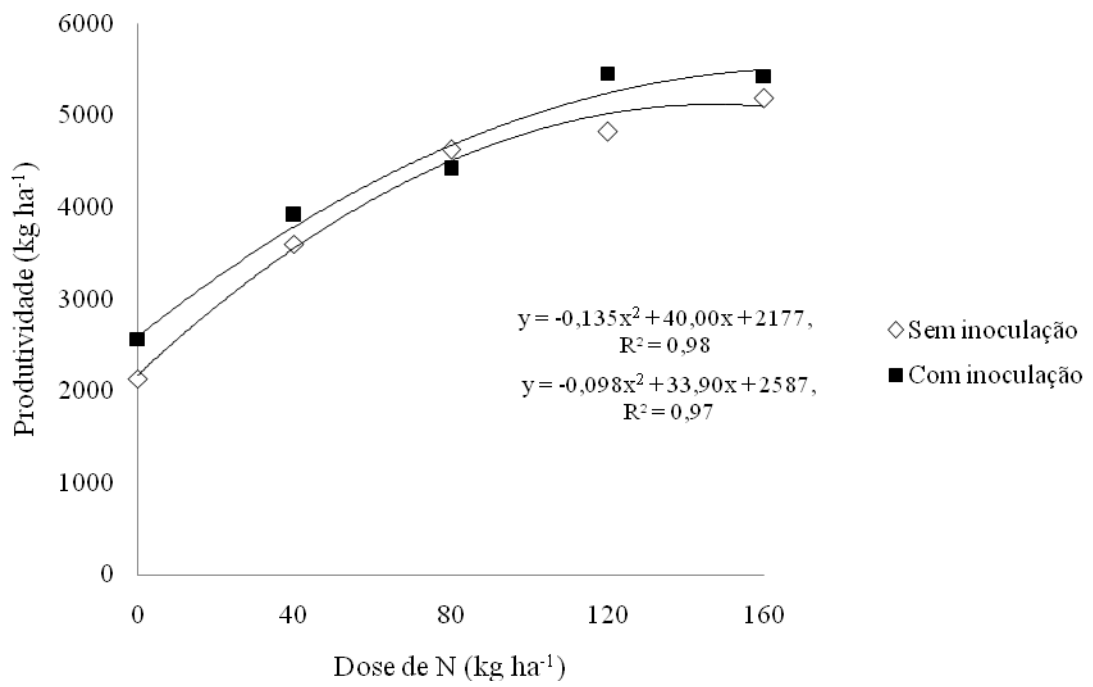


Figura 4. Produtividade de grãos secos de milho com (■) e sem (◇) inoculação de *Bacillus subtilis* e cultivado em solo sob diferentes níveis de N. Aos 76 dias após a emergência.



Figura 5 – Visão geral do experimento aos 20 dias após o plantio.



Figura 6 – Visão geral do experimento aos 20 dias após o plantio mostrando diferenças entre tratamentos.



Figura 7 – Adubação de cobertura (1ª cobertura) aos 25 dias após o plantio.



Figura 8 – Sistema de irrigação utilizado no experimento.



Figura 9 – Visão geral do experimento aos 60 dias após o plantio.



Figura 10 – Espigas de milho obtidas nos tratamentos testemunha.



Figura 11 – Espigas de milho de acordo com os tratamentos aplicados:
 N N + *Bacillus* Testemunha *Bacillus*.