

Desenvolvimento inicial da cultura do milho submetida ao uso de Inoculantes

Azospirillum e Bradyrhizobium

Bruno Soares Marcon^{1*}; Cornélio Primieri¹

¹Curso de Agronomia, Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG), Cascavel, Paraná.

^{1*}bsmarcon@minha.fag.edu.br

Resumo: Com a constante procura para aumento de produtividade e redução de custos, busca-se alternativas como inoculantes para melhorar o potencial produtivo e diminuir custos. Diante do exposto, o objetivo deste experimento foi avaliar o desenvolvimento inicial do milho submetido a co-inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. O experimento foi realizado no laboratório de Sementes do Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz (FAG) na cidade de Cascavel-PR em maio de 2022, utilizando o delineamento estatístico inteiramente casualizado (dic), com quatro tratamentos e cinco repetições, totalizando vinte unidades experimentais. Foi utilizado o híbrido Sempre 20A38 VIP3 e os tratamentos foram: T1 – Testemunha; T2- *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*; T3 – *Bradyrhizobium*; T4 – *Azospirillum*. No experimento foi usado b.o.d com foto período de doze horas e temperatura de 25 °C, os parâmetros avaliados foram germinação (%), plântulas mortas (%), plântulas normais (%), plântulas anormais (%), comprimento da raiz (cm), comprimento da parte aérea (cm). Após coletas dos dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk, a análise de variância (ANOVA), as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade de erro, com auxílio do programa SISVAR 5.6. Após a análise de parâmetros, foi identificada que a inoculação com *Azospirillum* é uma alternativa para potencialização da produção, e que o desenvolvimento do *Bradyrhizobium* foi inibido pela influência que o *Azospirillum* tem sobre leguminosas.

Palavras-chave: tratamentos; aérea; raiz.

Initial development of the corn crop subjected to the use of Inoculantes

Azospirillum e Bradyrhizobium

Abstract: With the constant search for increased productivity and cost reduction, alternatives such as inoculants are sought to improve the productive potential and reduce costs. Given the above, the objective of this experiment was to evaluate the initial development of maize submitted to co-inoculation with *Bradyrhizobium* and *Azospirillum*. The experiment was carried out in the Seed Laboratory of the Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz (FAG) in the city of Cascavel-PR in May 2022, using a completely randomized statistical design (dic), with four treatments and five replications, totaling twenty experimental units. The hybrid Semper 20A38 VIP3 was used and the treatments were: T1 – Control; T2- *Bradyrhizobium* and *Azospirillum*; T3 – *Bradyrhizobium*; T4 – *Azospirillum*. In the experiment, b.o.d was used with a photo period of twelve hours and a temperature of 25 °C, the evaluated parameters were germination (%), dead seedlings (%), normal seedlings (%), abnormal seedlings (%), root length (cm), shoot length (cm). After data collection, they were submitted to the Shapiro Wilk normality test, analysis of variance (ANOVA), means compared by Tukey's test, at the 5% error probability level, with the aid of the SISVAR 5.6 program. After analyzing parameters, it was identified that inoculation with *Azospirillum* is an alternative to potentiate production, and that the development of *Bradyrhizobium* was inhibited by the influence that *Azospirillum* has on legumes.

Keywords: treatments; aerial; source.

Introdução

O milho é umas das principais culturas brasileiras e sua produtividade é sempre uma preocupação para os produtores. Assim também é a busca por alternativas que potencializam a sua produção e o uso de inoculantes tem sido uma alternativa usada para melhorar a produção.

No entanto, o uso destas bactérias divide opiniões sobre a sua eficiência e custo na produção e o quanto elas são capazes de auxiliar no crescimento da planta.

Segundo a Conab (2014) o milho, cujo nome científico é *Zea mays L.*, possui uma importância social e econômica muito grande, sendo o bojo de diversas cadeias agroindustriais, com destaque ao fato de que o grão possui um imenso benefício nutricional, sendo o segundo grão mais cultivado no Brasil e um dos principais cultivos no mundo todo

O milho é a base da agricultura em nosso país, compondo os mais diferentes cultivos, tendo aparatos tecnológicos utilizados na sua produção, o que torna mais dinâmica a oferta e consequentemente o preço do cereal, bem como das *commodities* agrícolas e pecuárias em que o milho é introduzido (EMBRAPA, 2019).

Segundo estimativas da CONAB (2021), em relação a produtividade do grão, a previsão é que a safra 2021/22 seja de 115,9 milhões de toneladas e mesmo com o clima prejudicado, acredita-se na recuperação na produção, estimando um aumento de 29% se comparado a safra 2020/21, e esse aumento é resultante dos preços existentes no mercado, bem como pelo plantio feito no tempo ideal da soja, que é a cultura antecedente a do milho.

Já em relação às bactérias a serem utilizadas como inoculantes do milho, a *Bradyrhizobium* tem papel fundamental na fixação do nitrogênio, auxiliando assim na captura do nitrogênio e revertendo em nutrientes, sendo capaz de substituir adubos nitrogenados, o que resulta em uma produção excelente, sendo que a maior utilização desta bactéria se dá na soja (FRANCHI, 2020).

A bactéria *Azospirillum* por sua vez, infecta as raízes da planta, se espalhando dentro ou fora destas segundo Reis Junior *et al.* (1998) podendo colonizar a parte aérea, sendo usada especialmente nas gramíneas por meio da ampliação da fixação do nitrogênio e da produção dos hormônios, sendo comumente encontrada no solo em praticamente todos os continentes do mundo, o que reduz o uso de adubos nitrogenados na planta.

Na produção da soja, a eficiência da co-inoculação destas duas bactérias visa uma melhora da produtividade, pois o *Bradyrhizobium* ao interagir com outras bactérias, como é o caso da *Azospirillum*, traz diversas repercussões, ocorrendo potencialização no processo de formação dos nódulos e crescimento da planta, fruto dessa interação entre as bactérias diazotróficas e simbióticas (MELLO, 2014).

Diante do exposto o objetivo deste experimento é avaliar o desenvolvimento inicial do milho submetido a co-inoculação com o uso das bactérias *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no laboratório de Sementes do Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz (FAG) na cidade de Cascavel-PR no mês de maio de 2022.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições por tratamento, totalizando 20 unidades experimentais. Os tratamentos de inoculantes na cultura do milho foram: T1 – Testemunha; T2- *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*; T3 – *Bradyrhizobium*; T4 – *Azospirillum*. As sementes de milho utilizadas foram do híbrido comercial Sempre 20A38 VIP3.

Foi utilizado uma balança de precisão para peso de vidrarias, papel germitest, sementes e doses de produto, 0,37 g de *Bradyrhizobium* e 0,30 mL de *Azospirillum* conforme indicado pelo fabricante, após foram feitos os processos de inoculação nos determinados tratamentos. Em seguida contou-se 50 sementes na régua de sementes de milho, e em cada repetição dos tratamentos, e colocado a régua de sementes sobre o papel germitest que foi molhado com água destilada, soltando as sementes uniformemente por cima do papel húmido, foi utilizado mais um papel seco por cima das sementes para poder enrolar o papel, esse processo precisa ser feito com cuidado para não mover as sementes e em seguida é colocado em um saco plástico junto com as outras repetições daquele tratamento, e colocados na estufa B.O.D com foto período de 12 horas na temperatura de 25 °C.

As plântulas foram avaliadas 7 dias após o tratamento com os inoculantes, foram escolhidas 50 plantas de cada tratamento e 10 plantas de cada repetição, os parâmetros avaliados foram: % de germinação, % de plântulas mortas, % de plântulas normais, % de plântulas anormais, comprimento da raiz (cm), comprimento da parte aérea (cm). Os critérios para plântulas normais foram a germinação e o seu desenvolvimento de parte aérea e raiz dentro desses 7 dias. Sendo utilizado régua de medida para comprimento da raiz e parte aérea. Os parâmetros avaliados seguiram as Regras de Análises de Sementes determinadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2009)

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk, a análise de variância (ANOVA), as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade de erro, com auxílio do programa SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

Verificam-se diferenças na tabela 1, aonde o T4 *Azospirillum* obteve os melhores resultados no comprimento de raiz e no comprimento de parte aérea, o T2 *Azospirillum* + *Bradyrhizobium* também obteve um resultado melhor comparado aos demais tratamentos T1 Testemunha e T3 *Bradyrhizobium*, os quais os valores foram bem inferiores aos tratamentos 2 e 4.

Tabela 1 - Parâmetros comprimento de raiz e comprimento da parte aérea, de acordo com cada tratamento da cultura do milho em condições de laboratório. Cascavel-PR.

Tratamentos	Comprimento de raiz (cm)	Comprimento de Parte Aérea (cm)
T1 - Testemunha	12,90 b	2,76 b
T2 – <i>Azospirillum</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	14,40 ab	4,56 a
T3 - <i>Bradyrhizobium</i>	8,74 c	1,32 c
T4 – <i>Azospirillum</i>	16,08 a	5,66 a
CV%	8,83	17,33

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de significância.

Fonte: o autor (2022).

Quando comparados com os demais tratamentos da tabela 1, o parâmetro comprimento de raiz e o parâmetro comprimento de parte aérea, obtiveram diferenças estatísticas entre os tratamentos, sendo que o T2 e T4 foram significativamente iguais e obtiveram os melhores resultados, quando comparados ao T1 e T3. Mas ainda assim o T4 foi o que mostrou os melhores resultados em ambos os parâmetros ficando à frente dos resultados dos demais tratamentos, foi 0,30 mL de *Azospirillum* no tratamento das sementes. O T2 também mostrou um bom resultado comparado aos demais, foi usado 0,30mL de *Azospirillum* e 0,33g de *Bradyrhizobium*. O T1 ficou como testemunha, e o T3 obteve o pior resultado, foi usado 0,33g de *Bradyrhizobium*, essa bactéria pode ter inibido o crescimento de raiz e parte aérea.

Os resultados obtidos se contrapõem aos de Rampim *et al* (2020) pois em seu experimento as sementes de milho foram reinoculadas com *Azospirillum*, o que acabou por desenvolver o sistema radicular das plântulas de milho, gerando uma redução na parte área da planta, com menor massa seca, sendo justamente uma consequência das sementes reinoculadas, as quais ampliam a superfície de absorção da água e nutrientes, mas reduzem a sua parte aérea.

A produção dos hormônios pelo *Azospirillum*, como no caso da citocinina, acabam por ensejar um maior desenvolvimento do sistema radicular, podendo ser localizado e visualizado

no incremento da densidade e ainda, no comprimento dos pelos radiculares, o que se resulta no desenvolvimento de raízes laterais e o consequente aumento de volume da superfície radicular, isso tudo com grande influência das células epidérmicas diferenciadas, sendo exatamente esta a função do *Azospirillum*, ou seja, o aumento do sistema radicular para maior absorção dos nutrientes (MOREIRA *et al*, 2010).

Ademais, a respeito da fixação do nitrogênio em simbiose, esta é restrita as plantas leguminosas já que estas possuem estruturas especializadas em suas raízes, conhecidas como nódulos, onde ocorre a fixação biológica de nitrogênio, sendo que após sua formação as bactérias, como *Bradyrhizobium*, auxiliam na fixação do nitrogênio diretamente nos compostos orgânicos, dispensando assim o uso dos adubos nitrogenados (MENDES, REIS JR., CUNHA, 2010).

E ainda, segundo os mesmos autores, existem outras espécies de bactérias capazes de fixar o nitrogênio nas leguminosas, e estas já foram localizadas no milho, trigo e cana-de-açúcar, sendo diferente apenas que nestas plantas não há formação de nódulos e a fixação de nitrogênio fixadas são mais baixas (MENDES, REIS JR., CUNHA, 2010).

Outro ponto de destaque é que, o resultado obtido no presente experimento se contrapõe ao atingido no uso de *Azospirillum* e *Bradyrhizobium* no cultivo de sementes de soja, realizado por Fachinelli (2018) visto que neste a inoculação com ambas as bactérias trazem resultados de equivalência, e não de sobreposição.

No entanto, o uso do *Azospirillum* na semente de soja, também pode obter um resultado semelhante ao experimento em apreço, isso porque conforme os dados obtidos por Ferlini (2006) o uso da bactéria causa o alongamento do sistema radicular nas plantas inoculadas.

Na Tabela 2 são apresentadas as médias para os parâmetros de plântulas anormais, normais e germinação submetidas aos diferentes tratamentos.

Tabela 2 - Parâmetros plântulas anormais, plântulas normais, germinação de acordo com cada tratamento da cultura do milho em condições de laboratório. Cascavel-PR

Tratamentos	Plântulas Anormais (%)	Plântulas Normais (%)	Germinação (%)
T1 - Testemunha	29,6 b	70,00 b	98,80 a
T2 – <i>Azospirillum</i> + <i>Bradyrhizobium</i>	8,00 a	91,20 a	99,60 a
T3 – <i>Bradyrhizobium</i>	6,40 a	92,40 a	100,00 a
T4 - <i>Azospirillum</i>	30,0 b	92,00 a	90,80 a
CV%	37,99	5,30	6,19

Médias seguidas de uma mesma letra não diferem pelo teste Tukey a 5% de significância.

Fonte: o autor (2022).

Na Tabela 2, o T1 e o T4 obtiveram as piores porcentagens nos parâmetros de plântulas anormais e normais, e uma boa porcentagem de germinação comparada ao T4 e inferior ao T2 e T3, esses tratamentos tiveram uma média estatística igual, porém uma diferença em valor numérico, no T2 obteve-se as melhores porcentagens para os parâmetros de plântulas anormais e normais, e teve uma porcentagem de germinação superior aos T1 e T4, no T3 os resultados para os parâmetros de plântulas foi bem semelhante ao T2, mas teve superioridade alcançando a máxima porcentagem de germinação, no último tratamento T4 o resultado para plântulas anormais foi semelhante ao T1, obteve bom resultado no parâmetro de plântulas normais, mas teve uma baixa taxa de germinação comparada aos demais resultados.

No que diz respeito a germinação das sementes, nota-se que resultados semelhantes ocorreram com o uso de *Bradyrhizobium* na cultura da soja, onde a aplicação na dosagem de 100- 300 mL por 50 kg de sementes, trouxe um impacto positivo na germinação e desenvolvimento final das plantas, em quatro locais onde foram realizados estudos, e ainda, referida dosagem proporcionou aumento de germinação, número de nódulos e biomassa da raiz e parte aérea (SANTOS *et al*, 2022).

De outro modo, pode-se encontrar em experimentos como de Boschetti e Simonetti (2020) os quais utilizaram as mesmas bactérias, na cultura de soja, com os mesmos parâmetros de avaliação que as porcentagens de plântulas normais e anormais não apresentaram diferenças significativas, ao contrário da presente pesquisa, onde o número de plântulas anormais e normais obtiveram diferenças consideráveis se comparadas entre si.

Conclusão

A análise dos parâmetros avaliados neste estudo, permite que se observe o uso e a importância da inoculação com *Azospirillum* e pode ser considerado como uma alternativa para potencializar a produção e também econômica para o produtor. O uso de *Azospirillum* promoveu um maior crescimento da raiz e parte aérea do desenvolvimento inicial da cultura, fatores estes que são, sem sombra de dúvidas, importantíssimos para todo o ciclo da cultura. Observa-se ainda que os resultados obtidos pela co-inoculação das duas bactérias foram muito influenciados pelo desenvolvimento que o *Azospirillum* tem sobre as leguminosas, o que pode ter inibido o desenvolvimento do *Bradyrhizobium*.

Referências

- BRASIL. **Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Regras para análise de sementes.** 2009. Disponível em: < https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf>. Acesso em 01 Nov. 2022.
- BOSCHETTI, E. L.; SIMONETTI, A. P. M. M. Influência da coinoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* no desenvolvimento inicial da soja. **Revista Cultivando o Saber**, v. 1, n. 4. 2018.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Nova estimativa aponta para uma produção de grãos na safra 2021/22 em 268,2 milhões de toneladas.** (2021). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4494-nova-estimativa-aponta-para-uma-producao-de-graos-na-safra-2021-22-em-268-2-milhoes-de-toneladas#:~:text=Conab%20%2D%20Nova%20estimativa%20aponta%20para,268%2C%20milh%C3%B5es%20de%20toneladas>. Acesso em 27 mar. 2022.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Safras / Séries Históricas.** (2014). Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=20>>. Acesso em 27 mar. 2022.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Milho - Caracterização e Desafios Tecnológicos.** (2019). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/195075/1/Milho-caracterizacao.pdf>>. Acesso em 27 mar. 2022.
- FACHINELLI, R. **Influência da Inoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na Cultura da Soja.** 2018. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados- Mato Grosso do Sul.
- FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar análises estatísticas.** Lavras: Editora UFLA Departamento de Ciências Exatas, 2011.
- FERLINI, H. A. **Co-inoculação em soja (*Glycyne max*) com *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense*.** 2006. Disponível em: <<https://www.engormix.com/agricultura/articulos/co-inoculacion-en-soja-t26446.htm>>. Acesso em: 02 Nov. 2022.
- FRANCI, L. ***Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: o que são, sinergia e importância.** 2020. Disponível em: <<https://agro.genica.com.br/2020/07/20/bradyrhizobium-e-azospirillum/>>. Acesso em 27 mar. 2022.
- MELLO, N. ***Azospirillum brasilense* fornece fertilizante nitrogenado.** 2014. Disponível em: <<http://revistacampoenegocios.com.br/azospirillum-brasilense-fornece-fertilizante-nitrogenado/>>. Acesso em 27 mar. 2022.

MENDES, I. C., REIS JR. F. B., CUNHA, M. H. **20 Perguntas e Respostas sobre Fixação Biológica de Nitrogênio**. 2010. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/883833/1/doc281.pdf>>. Acesso em: 31 Out. 2022.

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

RAMPIM, L.; GUIMARÃES, V. F.; SALLA, F. H.; COSTA, A. C. P. R. da; INAGAKI, A. M.; BULEGON, L. G.; FRANÇA, R. Desenvolvimento inicial de plântulas de milho reinoculadas com bactérias diazotróficas. 2020. **Revista Research, Society and Development**, v.9, n. 5, e24953109, 2020.

REIS JÚNIOR, F. B.; DOBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; REIS, V. M.; MACHADO, A. T. **Seleção de genótipos de milho e arroz mais eficientes quanto ao ganho de N através de fixação biológica de N₂**. 1998. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAB-2010/27270/1/doc073.pdf>>. Acesso em 11 abril 2022.

SANTOS, R. et al. **Avaliação do inoculante líquido brazofix (*Bradyrhizobium japonicum* + *Azospirillum brasilense*) para a cultura da soja (*glycine max*)**. 2022. Disponível em <<https://www.brazilianjournals.com/ojs/index.php/BRJD/article/view/52796>>. Acesso em 03 Nov. 2022.