

Características agronômicas e produtivas do milho com inoculantes *Bacillus aryabhattai* e *Azospirillum* na semente

João Henrique Antunes Rossetto^{1,*}; Augustinho Borsoi¹

¹ Acadêmico do curso de Agronomia, Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG), Cascavel, Paraná.

* jharossetto@minha.fag.edu.br

Resumo: No Brasil a cultura do milho é produzido em grande escala, sendo utilizado para consumo humano, animal e em indústrias. Com isso, a implantação de novas tecnologias no campo é essencial para aumentar sua produção. A utilização de inoculantes traz esse aumento e diversos benefícios. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi comparar diferentes inoculantes na cultura do milho. O experimento foi conduzido no período de março a agosto de 2022 em propriedade privada localizada em Ubatã-PR. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados (DBC), contendo quatro tratamentos, sendo: T1= Testemunha; T2= *Bacillus aryabhattai* T3= *Azospirillum*, T4= *Bacillus aryabhattai* + *Azospirillum* e cinco repetições. Cada parcela foi formada por 5 linhas com espaçamento de 45 cm de largura e 5 metros de comprimento. Os resultados de diâmetro de colmo tiveram uma média de 1,73 cm, em comprimento da espiga a média foi de 13,44, na massa de mil grãos teve uma média de 194,96 g e na produtividade a média foi de 1994,71 kg ha⁻¹. O experimento realizado apesar de não ocorrer aumento no diâmetro de colmo, comprimento da espiga e produtividade com o uso de *Bacillus aryabhattai* e *Azospirillum brasiliense*, foi possível notar um aumento na massa de 1000 grãos. Demonstrando que o uso de inoculantes beneficia a cultura do milho.

Palavras-chave: Inoculantes; Biológicos; *Zea mays*.

Comparisons of *Bacillus aryabhattai* and *Azospirillum* inoculants

Abstract: In Brazil, corn is produced on a large scale, being used for human and animal consumption and in industries. With that, the implantation of new technologies in the field is essential to increase its production. The use of inoculants brings this increase and several benefits. Therefore, the objective of this work was to compare different inoculants in corn. The experiment was monitored from March to August 2022 on a private property located in Ubatã-PR. The design used was randomized blocks (DBC), containing four treatments, as follows: T1= Control; T2= *Bacillus aryabhattai* T3= *Azospirillum*, T4= *Bacillus aryabhattai* + *Azospirillum* and five replicates. Each plot consisted of 5 rows spaced 45 cm wide and 5 meters long. The stem diameter results had an average of 1.73 cm, in ear length the average was 13.44, in the mass of a thousand grains it had an average of 194.96 g and in productivity the average was 1994.71 kg ha⁻¹. The experiment carried out, although there was no increase in stem diameter, ear length and productivity with the use of *Bacillus aryabhattai* and *Azospirillum brasiliense*, it was possible to notice an increase in the mass of 1000 grains. Demonstrating that the use of inoculants benefits the corn crop.

Keywords: Inoculants; Biological; *Zea mays*.

Introdução

Atualmente, o Brasil ocupa a terceira posição no ranking mundial de produção de milho, com aproximadamente 101 milhões de toneladas produzidas na safra 2020/2021, de acordo com os estudos desenvolvidos pela USDA do levantamento mundial da safra (FIESP, 2020). Sua utilização é evidenciada em grande escala na indústria, alimentação humana e animal (MENEGALDO, 2015). Considerando a grande importância da cultura para o agronegócio mundial e a necessidade do aumento de produtividade com o melhor aproveitamento das áreas existentes, é destacada a importância de implantação de novas tecnologias economicamente viáveis para beneficiar o agricultor, e consequentemente aumentos de produção (KLEINSCHMITT, 2016).

Com a adoção de novos métodos e tecnologias em desenvolvimento disponíveis no mercado, tais como, a utilização de híbridos provenientes das práticas de melhoramento genético, com maior adaptabilidade e capacidade de produção, melhores práticas de cultivo, qualidade industrial, melhor tolerância ao ataque de pragas, doenças, e patógenos em geral, além de melhores tecnologias genéticas para o melhor controle de plantas daninhas em meio a cultura, juntamente as práticas de inoculação que podem proporcionar ao agricultor um melhor aproveitamento do potencial produtivo da planta (EMBRAPA, 2004).

A cultura do milho é influenciada por diversos problemas de estresses ambientais, tais como a baixa fertilidade do solo, falta de chuvas ao longo do ciclo, e entre outros, sendo que ao mesmo tempo em que o custo dos fertilizantes nitrogenados utilizados na cultura, são de extremo custo de investimento econômico (MORTATE *et al.*, 2018). Contudo, é evidenciado que a utilização de bactérias diazotróficas que realizam a fixação biológica do nitrogênio, promovem o crescimento vegetal, e geram incremento na produtividade da lavoura (SOUZA, 2019). Isso acontece em decorrência do nitrogênio fazer parte do complexo da síntese das proteínas vegetais, e as mesmas podem ser utilizadas como uma solução alternativa para proporcionar redução do uso de fertilizantes químicos, e consequentemente o custo do manejo (DARTORA *et al.*, 2013).

Segundo Fernandes. (2008), a adubação nitrogenada é de extrema importância na cultura do milho, tendo em vista que o nitrogênio é classificado como um dos nutrientes que apresentam efeitos consideráveis no maior rendimento e peso dos grãos. É destacada a necessidade do nutriente em grandes quantidades, pois o mesmo apresenta importante papel na composição das proteínas, enzimas, e ácidos nucleicos, contudo, a origem desses fertilizantes nitrogenados são provenientes de combustíveis fósseis, sendo oriundos de fontes não renováveis, o que explica o elevado custo de adubação na cultura do milho (CANTARELLA, 2007).

Apesar desses fatores, como forma de reduzir os custos durante o cultivo, é evidenciada a crescente busca por formas alternativas de fertilizantes nitrogenados, como é o caso da fixação biológica do nitrogênio que pode contribuir com o fornecimento de nutrientes para a planta (CARMO *et al.*, 2020). Em determinados casos, as bactérias fixadoras do nitrogênio atmosférico podem substituir a utilização de fertilizantes químicos, predominando uma forma de sustentabilidade ao ecossistema, ocorrendo menores índices poluentes ao meio ambiente, além de uma forma sustentável de adubação com redução de custos e garantia do suprimento de nutrientes necessários para a planta (BERGAMASCHI, 2006).

Um dos principais objetivos da fixação biológica de nitrogênio nas gramíneas quando a bactéria é associada ao sistema radicular, é o incremento na produtividade em decorrência ao melhor aproveitamento da água, e como consequência maior atividade fotossintética e acúmulo de carboidratos e reservas, melhorando o desenvolvimento da planta (HUNGRIA, 2011).

A espécie *Bacillus aryabhattai*, trata-se de uma bactéria gram-positiva com formação de endósporos com colônias de aproximadamente 5 a 8 mm de diâmetro, sendo de formato bastonete (LEE *et al.*, 2012). Em solo brasileiro, a bactéria proporcionou o crescimento do milho mesmo sofrendo por condições de estresse hídrico, devido a sua capacidade de desenvolver a produção de substâncias denominadas exopolissacarídeos, além de uma espécie de biofilme que desenvolvem a proteção para a planta não sofrer com a falta de água (PARK *et al.*, 2017). Além disso, também proporcionam a proteção contra fitopatógenos prejudiciais a cultura em decorrência de seu controle biológico (BUCHELT *et al.*, 2019).

As bactérias fixadoras do gênero *Azospirillum*, representam um grupo de rizo bactérias promotoras do crescimento das plantas, ao mesmo tempo em que eleva a atividade de assimilação do nitrogênio e de atividades de enzimas fotossintéticas, promovendo o aumento da quantidade de matéria seca da planta, e consequentemente elevando o desenvolvimento e a capacidade de produção da mesma (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016).

Considerando a atual importância da cultura do milho no cenário mundial, aliada a necessidade da redução dos custos de produção por métodos alternativos, o objetivo do presente estudo foi de avaliar as características agronômicas e produtivas da cultura do milho em relação a utilização das diferentes espécies de bactérias *Bacillus aryabhattai* e *Azospirillum* na semente.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no período de 10 de março de 2022 a 15 de agosto de 2022, a campo em propriedade privada localizada em Ubitatã-PR, nas seguintes coordenadas 24º 51’

71'' S e 52o 91' 12'' W e altitude de 508 M. O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distroférico típico, de textura argilosa (EMBRAPA, 2013). Segundo Aparecido *et al.*, (2016), a classificação de Koppen como clima do tipo Cfa - Clima subtropical.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados (DBC), contendo quatro tratamentos, sendo: T1= Testemunha; T2= *Bacillus aryabhattai*; T3= *Azospirillum* T4= *Bacillus aryabhattai* + *Azospirillum*, com cinco repetições, totalizando 20 parcelas. Cada parcela foi formada por cinco linhas com espaçamento de 0,45 m de largura e 5 m de comprimento.

As sementes foram tratadas da seguinte forma, utilizando um borrifador e uma betoneira (específica para tratar sementes). Feito 7 kg de sementes por vez no tratador, a variedade de milho utilizada foi o FS564PWU, a dose utilizada foi de 2 ml por kg de semente para todos os produtos e não foi utilizado nenhum outro tratamento junto, as parcelas foram plantadas com plantadeira mecânica. As aplicações de defensivos foram feitas de igual forma.

Não foi realizado análise de solo e os inoculantes utilizados foram: *Bacillus aryabhattai* concentração: 1,04 g/ml e *Azospirillum brasiliense* concentração: 5×10^8 UFC/ml. A adubação de base utilizada foi 10-15-15 com 207 kg ha⁻¹, não sendo feito, adubação de cobertura, as aplicações aéreas feitas foram de herbicidas (1 vez), inseticidas (5 vezes) e fungicidas (2 vezes).

No ponto de colheita foi mensurado o diâmetro do colmo em 5 plantas por parcela com auxílio de um paquímetro e após as espigas foram colhidas de forma manual, para determinação da produtividade. Também foi avaliado a massa de mil grãos (MMG), onde foram separados 4 amostras de 1000 grãos em cada parcela, . Para o cálculo de produtividade foi utilizado o peso da amostra com a umidade corrigida para 13%.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F e, quando significativo, as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com o auxílio do programa SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

Resultados e discussões

Durante a condução do experimento o milho não passou por stress hídrico, porém passou por algumas adversidades como baixas temperaturas, em fases de enchimento de grão, e também alta pressão de ataque de cigarrinhas – *Dalbulus Maidis*, que causou danos em cerca de 80 % das plantas, devido a isso o híbrido não conseguiu atingir seu potencial produtivo.

Foi verificado diferença estatística significativa para massa de 1.000 grãos, não havendo diferença significativa para as variáveis diâmetro de colmo, comprimento da espiga e produtividade.

Segundo Kennedy *et al* (2004) “na cultura do milho, a maioria dos experimentos para avaliação da inoculação de *Azospirillum*, mostrou aumentos de rendimento de grãos de, aproximadamente 25 %”. No experimento realizado verifica-se que no T1 (testemunha) houve uma produtividade de 1907,796 kg ha⁻¹ e no T3 (2 mL por kg de *Azospirillum*) ocorreu uma produtividade de 2050,95 kg ha⁻¹ totalizando um aumento de 143,154 kg ha⁻¹ com o tratamento de *Azospirillum*.

Tabela 1 – Resumo da análise de variância e médias para (DC), (CE), (MMG), produtividade de milho em função da inoculação com *Azospirillum* e *Bacillus aryabhattai* em condições de campo. Ubiratã/PR, 2022.

Tratamentos	D.C. (cm)	C.E. (cm)	M.M.G. (g)	PRODT (kg ha-1)
T1 Testemunha	1,75 ab	13,3 a	195,18 ab	1907,79 a
T2 <i>Bacillus aryabhattai</i>	1,73 a	13,9 a	203,22 a	1801,70 a
T3 <i>Azospirillum brasiliense</i>	1,71 a	13,0 a	203,78 a	2050,95 a
T4 <i>Bacillus Aryabhattai</i> + <i>Azospirillum brasiliense</i>	1,70 b	13,6 a	175,65 b	2218,37 a
CV (%)	6,92	7,04	5,67	21,85
Média geral	1,73	13,44	194,46	1994,71
P valor (%)	100 ns	100 ns	0,53 **	100 ns

T1 = testemunha (sem inoculação), T2 = 2ml por kg *bacillus aryabhattai*, T3 = 2ml por kg *azospirillum*, CV = Coeficiente de Variação; n.s. = não significativo. Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Fukami *et al.* (2016) fundamentam que “a inoculação de sementes com *Azospirillum Brasiliense* é uma importante estratégia na busca por sistemas mais conservacionistas”. Além de atuar na fixação de nitrogênio, o *Azospirillum* auxilia na produção de hormônios e serve como agente de controle biológico de patógenos.

Lee *et al.* (2012) propõe que a habilidade de *Bacillus aryabhattai* em promover crescimento de plantas pode ser devido a produção de vários fitormônios como AIA, ácido abscísico e giberelina, além de solubilização de fósforo, podem tomar o uso deste micro-organismo interessante para revegetação de terras.

Os parâmetros diâmetro de colmo, comprimento da espiga e produtividade não verificou-se diferenças quando usado os tratamentos, o que pode ter ocorrido devido ao intenso ataque de cigarrinhas - *Dalbulus Maidis* que são vetores de doenças como o enfezamento pálido (*Spiroplasma kunkelii*), enfezamento enfezamento vermelho (Maize bushy stunt phytoplasma) e do vírus rayado fino. Os sintomas característicos do enfezamento pálido são estrias cloróticas esbranquiçadas que surgem na base das folhas e se sobrepõem às nervuras, a planta apresenta redução da altura e espigas pequenas e pode ficar improdutivo. O enfezamento vermelho causa avermelhamento das folhas e pequenas espigas com poucos grãos (NOGUEIRA, 2022).

Quando se compara os tratamentos que foram utilizados os inoculantes T2 (2ml por kg *Bacillus aryabhattai*), T3 (2ml por kg *Azospirillum*) e T4 (*Bacillus aryabhattai* + *Azospirillum*) houve uma diferença numérica na produtividade em que o T2 foi inferior se comparados com os outros tratamentos.

Na cultura do milho o nutriente mais exigido é o nitrogênio (N), e a sua falta pode vir a ser um fator limitante na produtividade. No entanto este elemento tem um baixo índice de aproveitamento pelas plantas, raramente ultrapassando 50% (HUNGRIA et al, 2007).

Com isso, tem se buscado alternativas biológicas para auxiliar o melhor aproveitamento desse nutriente, como por exemplo, as bactérias do gênero *Azospirillum* e *bacillus aryabhattai*.

Casanovas *et al.* (2002) observaram que a inoculação de *Azospirillum* aumentou o volume de raízes e incrementou o conteúdo de água das folhas, mitigando o estresse hídrico de plantas de milho, que tiveram redução de até 75 % no suprimento de água. De acordo com Quadros (2014). A inoculação de *Azospirillum* em milho pode estimular o desenvolvimento de plantas no período vegetativo, aumentando a probabilidade de se obter um estande de plantas uniforme, maior resistência ao estresse hídrico e maior teor de clorofila nas folhas.

Sendo assim, os benefícios da inoculação em milho além de diversos outros, um dos principais é o desenvolvimento radicular, fazendo com que absorva maior quantidade de água e nutrientes, por esse motivo em caso de déficit hídrico sentiriam menos o estresse e se desenvolveria melhor em comparação a planta não inoculada, no entanto como as plantas não passaram por falta de água e sofreram um grande dano de cigarrinhas - *Dalbulus Maidis*, não houve diferenças nos parâmetros diâmetro de colmo comprimento de espiga e produtividade e sim na massa de 1000 grãos.

Conclusão

Nas condições de estudo, apesar de não ocorrer aumento no diâmetro de colmo, comprimento da espiga e produtividade com o uso de *Bacillus aryabhattai* e *Azospirillum brasiliense* ocorreu aumento na massa de mil grãos.

Referências

APARECIDO, L. E. O.; ROLIM, G. S.; RICHETTI, J.; SOUZA, P. S. JOHANN, J. A. Classificações climáticas de Koppen, Thornthwaite e Camargo para zoneamento climático no Estado do Paraná, Brasil. **Ciência e Agrometeorologia**, v. 40, n. 4, p. 405-417, 2016.

BERGAMASCHI, C. **Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas às raízes e colmos de cultivares de sorgo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

BUCHELT, A. C.; METZLER, C. R.; CASTIGLIONI, J. L.; DASSOLLER, T. F.; LUBIAN, M. S. Aplicação de bioestimulantes e *Bacillus subtilis* na germinação e desenvolvimento inicial da cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 6, n. 4, p. 69-74, 2019.

CANTARELLA, H. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 375-470, 2007

CARMO, K. B.; BERBERII, G. C. M.; BOURSCHEIDTIII, M. L. B.; GARCIAI, M. N.; SILVA, A. F.; FERREIRA, A. Desempenho agrônômico do milho safrinha em resposta a doses de nitrogênio combinadas com inoculante biológico em Mato Grosso. **Scientific Electronic Archives**, v. 13, n. 7, p. 95-101, 2020.

CASANOVAS, E. M.; BARASSI, C. A.; SUELDO, R. J. *Azospirillum* inoculation mitigates water stress effects in maize seedlings. **Cereal Research Communications**, v. 30, p. 343-350, 2002.

CASSÁN, 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.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 17, n. 10, p. 1023–1029, 2013.;

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos** – 3ed. Ver. Ampl. Brasília, DF: EMBRAPA, 2013. 353 p.

EMBRAPA. **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa, Uva e Vinho, 2004. 652 p.;

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L.; TRIVELIN, P. C. O. Parcelamento da adubação nitrogenada na cultura do milho e utilização do N residual pela sucessão aveia preta - milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1138-1141, 2008.;

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FIESP - Federação das Indústrias do Estado de São Paulo, Safra Mundial de Milho 2020/2021 - 1º Levantamento do USDA. In: **Boletim Informativo FIESP**. Maio, 2020. Disponível em: <<https://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/>>. Acesso em: 25 Mar. 2022.;

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat whith *Azospirillum brasiliense*. **Amb Express**, v. 6, p. 1-13, 2016.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Documentos 325. Londrina: Embrapa Soja, 2011.

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

KLEINSCHMITT, E. **Produtividade da cultura do milho (*Zea mays*) em resposta à inoculação de *Azospirillum brasilense* em combinação com fertilizantes bioindutores.** 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/165170/EzequielKleinschmitt.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 25 Mar. 2022.;

LEE, S.; KA, J. O.; SONG, H. G. Growth Promotion of *Jnn/hium italicum* by Application of Rhizobacterial Isolates of *Bacillus aryabhattai* in Microcosm Soil. **The Journal of Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 45 49, 2012.

MENEGALDO, J. G. **A importância do milho na vida das pessoas.** Embrapa Meio-Norte 2015. Disponível em: <<https://www.infotec.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/888767/1/Importanciamilho.pdf>>. Acesso em: 25 Mar. 2022.;

MORTATE, R. K.; NASCIMENTO, E. F.; GONÇALVES, E. G. S.; LIMA, M. W. P. Resposta do milho (*Zea mays* L.) a adubação foliar e via solo de nitrogênio. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 5, n. 1, p. 1-6, jan./mar. 2018.

NOGUEIRA, G. C.; YOCIO, J. M.; OLIVEIRA, M. DA C. S. **Controle e manejo da cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) no Brasil.** 2022. Disponível em: <<https://repositorio.animaeducacao.com.br/handle/ANIMA/23754>>. Acesso em: 02 Nov. 2022.

PARK, Y. G.; MUN, B. G.; KANG, S. M.; HUSSAIN, A.; SHAHZAD, R.; SEO, G. H.; KIM, A. Y.; LEE, S. U.; OH, K. Y.; LEE, D. Y.; LEE, I. J.; YUN, B. W. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PLOS ONE**, v. 12, n.3, p. 28, 2017.

QUADROS, P. D.; LUIZ FERNANDO, W. R.; PAULO RÉGIS, F. S.; VLADIRENE, M. V.; DIONI, D. R.; FLÁVIO ANASTACIO O. C. Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres** [online], v. 61, n. 2, 2014.

SOUZA, S. **Inoculante reduz uso de nitrogênio em milho e aumenta produtividade em mais de 100%.** Embrapa. 2019. disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/45031761/inoculante-reduz-uso-de-nitrogenio-em-milho-e-aumentaprodutividadeem-mais-de-100>>. Acesso em: 25 Mar. 2022.