

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS CERES
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IRRIGAÇÃO NO CERRADO**

**Bactérias promotoras do crescimento vegetal na germinação
e crescimento vegetativo da cultura do milho**

**Autora: Polliany Santos Xavier
Orientadora: Profa. Dra. Priscila Jane Romano Gonçalves Selari**

**CERES - GO
NOVEMBRO, 2024**

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS CERES
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IRRIGAÇÃO NO CERRADO**

**Bactérias promotoras do crescimento vegetal na germinação
e crescimento vegetativo da cultura do milho**

**Autora: Polliany Santos Xavier
Orientadora: Profa. Dra. Priscila Jane Romano Gonçalves Selari**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM IRRIGAÇÃO NO CERRADO, ao Programa de Pós-Graduação em Irrigação no Cerrado do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Ceres – Área de Concentração: Irrigação.

**CERES - GO
NOVEMBRO, 2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas (SIBI) – Instituto Federal Goiano

X3b

Xavier, Polliany Santos.

Bactérias promotoras do crescimento vegetal na germinação e crescimento vegetativo da cultura do milho [manuscrito] / Polliany Santos Xavier. – Ceres, GO: IF Goiano, 2024.
68 fls. : tabs.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Priscila Jane Romano Gonçalves Selari.

Dissertação (Mestrado em Irrigação no Cerrado) – Instituto Federal Goiano, Campus Ceres, 2024.

1. Bioinsumos. 2. Déficit hídrico. 3. Germinação. 4. Inoculação.
5. Sementes. 6. *Zea mays* L. I. Selari, Priscila Jane Romano Gonçalves.
II. Título. III. Instituto Federal Goiano

CDU 633.6

Ficha elaborada por Johnathan Pereira Alves Diniz – Bibliotecário/CRB 1 nº 2376

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

☐ Tese (doutorado)	☐ Artigo científico
☒ Dissertação (mestrado)	☐ Capítulo de livro
☐ Monografia (especialização)	☐ Livro
☐ TCC (graduação)	☐ Trabalho apresentado em evento
☐ Produto técnico e educacional - Tipo:	
Nome completo do autor: Polliany Santos Xavier	Matrícula: 2022103330640014
Título do trabalho: Bactérias promotoras do crescimento vegetal na germinação e crescimento vegetativo na cultura do milho	

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: ☒ Não ☐ Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: / /

O documento está sujeito a registro de patente? ☐ Sim ☒ Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim ☒ Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Documento assinado digitalmente

POLLIANY SANTOS XAVIER
Data: 17/12/2024 18:43:23-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

/ /
Local Dat

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Documento assinado digitalmente

PRISCILA JANE ROMÃO GONÇALVES SELARI
Data: 18/12/2024 04:50:07-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Cliente e de acordo:



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 13/2024 - CCMIC-CE/GPPI/CMPCE/IFGOIANO

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 25 dias do mês de outubro do ano de dois mil e vinte quatro, realizou-se a Defesa de Dissertação da acadêmica **Polliany Santos Xavier** do Curso de Mestrado Profissional em Irrigação no Cerrado, número de defesa 069, matrícula 2022103330640014, RG 561357-3 SSP-GO, CPF: 036.376.451-81, cuja dissertação intitula-se e **'Inoculação de bactérias promotoras de crescimento na germinação e crescimento vegetativo na cultura do milho verde (*Zea mays* L.)'**. A defesa iniciou-se às 13 horas e 30 minutos, finalizando-se às 17 horas e 31 minutos, onde a banca examinadora considerou o trabalho aprovado, estando apta para fins de conclusão da Dissertação, devendo a acadêmica apresentar no prazo de sessenta (60) dias a versão final corrigida conforme considerações da banca, em formato digital (PDF), acompanhado do termo de autorização para publicação eletrônica (devidamente assinado pelo autor), para posterior inserção no Sistema de Gerenciamento do Acervo e acesso ao usuário via internet. Os integrantes da banca examinadora assinam a presente ata.

Profª. Dra. Priscila Jane Romano Gonçalves Selari

Presidente da banca
IF Goiano - Campus Ceres

Prof. Dr. Luís Sérgio Rodrigues Vale

Avaliador Interno
IF Goiano - Campus Ceres

Primeiramente a Deus, pois, sem Ele, não teria vencido todos os desafios durante esta trajetória. Ao meu pai Márcio Neudes Xavier, à minha mãe Ana Paula Santos Xavier, ao meu irmão Gabriel Santos Xavier e ao meu filho Samuel Filipe, minha inspiração diária, por quem eu luto todos os dias para um futuro melhor.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me manter forte perante as dificuldades e nunca me deixar desistir de buscar alcançar meus objetivos e realizá-los.

À minha família: pai, mãe, irmão e avó, por sempre segurarem em minhas mãos e levantar-me quando precisei. Em especial, agradeço à minha mãe, que mesmo tendo muito trabalho, sempre tirou um tempinho para me ajudar nas avaliações do experimento.

Ao meu filho Samuel Filipe, por ser minha inspiração a cada dia e me manter forte para enfrentar os desafios de ser mãe solo, estudante, dona de casa e mulher, pois foi por ele que nunca desisti de concluir o mestrado.

À minha comadre Janaína Batista de Lima Lopes, por colaborar nas avaliações experimentais.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, pela oportunidade de fazer o curso de Mestrado em Irrigação no Cerrado.

Ao professor Dr. Jeferson Correia Ribeiro, coordenador do curso de Zootecnia, Campus Morrinhos – GO; ao Jhon Lenon Silva professor visitante do IF Goiano – Campus Ceres, pelo auxílio na estatística do projeto.

À minha orientadora Dra. Priscila Jane Romano Gonçalves Selari, pela atenção, companheirismo e orientação durante este trabalho.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

BIOGRAFIA DA AUTORA

Polliany Santos Xavier, filha de Ana Paula Santos Xavier e Márcio Neudes Xavier, mãe de Samuel Filipe Xavier Magalhães, nasceu em 25 de junho de 1993 em Ceres – GO. Em 2012, ingressou no curso de bacharelado em Agronomia do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, tendo recebido em 2017 o título de Agrônoma. Em 2022, iniciou o curso de Mestrado em Irrigação no Cerrado, também pelo Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, Área de Concentração em Tecnologia de Irrigação. Durante o curso, trabalhou como Responsável Técnica na empresa Agropecuária ELSHADAY, durante 12 meses. Atualmente, é Técnica de Campo AteG do SENAR – GO, na cadeia de horticultura, em Uruana -GO.

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO GERAL	16
2.	OBJETIVOS	17
2.1.	OBJETIVO GERAL	17
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3.	CAPÍTULO I.....	17
3.1.	REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA	17
3.1.1.	Cultura do milho	17
3.1.2.	Importância econômica da cultura do milho AG 1051	18
3.1.3.	Importância da adubação nitrogenada para o milho.....	18
3.1.4.	Interação planta-bactérias diazotróficas associativas	19
3.1.5.	Gênero <i>Azospirillum</i>	20
3.1.6.	Gênero <i>Bacillus</i>	22
3.2.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
4.	CAPÍTULO II	28
4.1.	INTRODUÇÃO	29
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.2.1.	Caracterização da área experimental.....	30
4.2.2.	Material biológico	31
4.2.3.	Manejo da Irrigação	31
4.2.4.	Inoculação de sementes e semeadura	33
4.2.5.	Adubação do solo.....	33
4.2.6.	Delineamento experimental e tratamentos	34
4.2.7.	Avaliações biométricas e fisiológicas	35
4.2.8.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
4.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.4.	CONCLUSÃO	46
4.5.	Referências Bibliográficas	47
5.	CAPÍTULO III.....	50
5.1.	INTRODUÇÃO	51
5.2.	MATERIAL E MÉTODOS	52
5.2.1.	Caracterização da área experimental.....	52
5.2.2.	Material biológico	53
5.2.3.	Inoculação de sementes de milho.....	54
5.2.4.	Delineamento experimental	54
5.2.5.	Experimento em Laboratório	55
5.2.6.	Experimento em canteiro com areia.....	56
5.2.7.	Análise estatística.....	56

5.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.3.1.	TESTE DE GERMINAÇÃO EM LABORATÓRIO.....	56
5.3.2.	EXPERIMENTO EM CANTEIRO COM AREIA	60
5.4.	CONCLUSÃO	63
5.5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
6.	CONCLUSÃO GERAL	66
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Análise química e textura do solo usado no experimento. Ceres – GO, 2023.....	34
--	----

CAPÍTULO III

Tabela 1. Germinação (G), Plantas normais (PN), Sementes mortas (SM), Comprimento da parte aérea (CPA), Comprimento da raiz (CR), Volume de Raiz (VR) de plântulas de milho inoculadas com diferentes bactérias e controle	57
Tabela 2. Germinação (G), Plantas normais (PN), Sementes mortas (SM) de sementes de milho com e sem tratamento de inseticidas e fungicidas.....	58
Tabela 3. Massa seca de Raiz (MSR) em gramas de plântulas de milho inoculadas com diferentes bactérias, tratadas e não tratadas com fungicida e inseticidas.....	59
Tabela 4. Germinação (G), Altura de plântula (AP), Número de Folhas (NF), Massa seca de Folha (MSF), Comprimento da raiz (CR) e Volume de Raiz (VR) de plântulas de milho inoculadas com diferentes bactérias e controle.....	60
Tabela 5. Comprimento da raiz (CR), e Massa seca de Folha (MSF) de sementes de milho com e sem tratamento de inseticidas e fungicidas.....	61
Tabela 6. Massa seca de Raiz (MSR) de plântulas de milho inoculadas com diferentes bactérias, lavadas e tratadas com fungicida e inseticidas.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1. Área Experimental. Ceres-GO, 2023.....	31
Figura 2. Medição de altura de planta (A.), determinação de diâmetro de caule aos 30 DAE (B.).....	35
Figura 3. Avaliações do índice de clorofila, usando clorofilômetro portátil (Clorofilog Falker, CFL 2060) (A.), e temperatura das folhas, utilizando uma câmera térmica de bolso (19.200 pixels) (B.).....	36
Figura 4. Altura de plantas de milho verde aos 20 DAE, submetidas a diferentes doses de Nitrogênio.....	37
Figura 5. Diâmetro de colmo de plantas de milho verde aos 20 DAE, submetidas a diferentes doses de Nitrogênio.....	38
Figura 6. Número de folhas de milho verde aos 20 DAE, submetidas a diferentes doses de Nitrogênio.....	38
Figura 7. Número de folhas totais (A.), número de folhas vivas (B.), altura de plantas (C.) e diâmetro de colmo (D.) de plantas de milho verde aos 30 DAE, submetidas a diferentes doses de Nitrogênio.....	40
Figura 8. Índice de clorofila de plantas de milho verde aos 40 DAE, submetidas a diferentes doses de Nitrogênio.....	41
Figura 9. Efeito quadrático de doses Nitrogênio para diâmetro de caule (mm) (A), número de folhas vivas (B), número de folhas totais (un.) (C) e altura de planta (cm) (D) com a presença ou não de <i>Azospirillum brasilense</i> em solos sob irrigação e não irrigado.....	42
Figura 10. Efeito quadrático de doses nitrogênio para Clorofila total (A), Massa fresca da raiz (B), Massa seca da raiz (C) e Volume de raiz (D) com a presença ou não de <i>Azospirillum brasilense</i> em solos sob irrigação e não irrigado.....	43
Figura 11. Resultados observados para Massa seca da raiz (A), e Massa fresca da raiz (B), Volume de raiz (C), Clorofila total (D) em solo irrigado e sem irrigação. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste F da Anova.....	46

CAPÍTULO III

Figura 1. (A) Microbiolização de sementes de milho com <i>B. amyloliquefaciens</i> ; (B) Sementes de milho microbiolizadas dentro de fluxo laminar.....	54
--	----

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

Símbolo/Sigla	Significado	Unidade de medida
%	Porcentagem	
*	Significativo ao nível de 5%	
**	Significativo ao nível de 1%	
°C	Grau Celsius	
ABA	Ácido abscísico	
AIA	Ácido indolacético	
AG 1051	Agrocerees 1051	
Al	Alumínio	Cmol dm ³
AP	Altura de planta	cm
<i>A. Brasilense</i>	<i>Azospirillum brasilense</i> Abv 5 e Abv 6	
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 23858	
<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> a 1x10 ⁸ UFC/mL.	
B.O.D.	Biochemical oxygen demand	
BPCP	Bactérias promotoras de crescimento de plantas	
BPCV	Bactérias promotoras de crescimento vegetal	
CCV	Capacidade de vaso	
Ca	Cálcio	Cmol dm ³
CO ₂	Dióxido de carbono	
CR	Comprimento de raiz	cm
CPA	Comprimento de parte aérea	cm
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento	
DAE	Dias após emergência	
DAS	Dias após a semeadura	
DAT	Dias após o transplante	
DIC	Delineamento inteiramente casualizado	
DBC	Delineamento em blocos casualizados	

DC	Diâmetro do caule/colmo	mm
ET _c	Evapotranspiração da cultura	mm/dia
ECA	Evaporação medida no Tanque (mm dia ⁻¹)	
FBN	Fixação Biológica de Nitrogênio	
G	Germinação	%
H	Horas	
H ₂ O	Água	
IVE	índice de velocidade de emergência	
LIMBIO	Laboratório de Interações Microbianas e Biotecnologia	
LAS	Laboratório de análises de sementes	
K	Potássio	dm ³
K _p	Coeficiente do Tanque Classe, ambiente protegido este é igual a 1	
K _c	Coeficiente da cultura.	
L	Litro	L
Ln	Logarítmo natural	
MSR	Massa seca de raiz	g
MSF	Massa seca da folha	g
MFPA	Massa fresca da parte aérea	g
MFR	Massa fresca da raiz	g
Mg	Magnésio	Cmol _c dm ³
MO	Matéria orgânica	dm ³
N	Nitrogênio	
Ns	Não significativo	
N ₂	Gás nitrogênio	

N ₂ O	Óxido nitroso	
NH ₃	Amônia	
P	Fósforo	mg dm ³
NF	Número de folhas	
PN	Plantas normais	
<i>P. aryabhattai</i>	<i>Priestia aryabhattai</i> (syn. <i>B. aryabhattai</i>) a 1x10 ⁸ UFC/mL.	
pH	Potencial hidrogeniônico	
RNC	Registro nacional de cultivares	
RAS	Regras de análises de sementes	
RPCV	Rizobactérias promotoras de crescimento vegetal	
SM	Sementes mortas	
TE	Temperatura	°C
T	Soma de bases	Cmol _c dm ³
UR	Umidade reativa	%
V	Saturação por bases	%
VR	Volume de raiz	cm ³

RESUMO

XAVIER, POLLIANY SANTOS. Instituto Federal Goiano – Campus Ceres – GO, novembro de 2024. **Bactérias promotoras do crescimento vegetal na germinação e crescimento vegetativo da cultura do milho verde.** Orientadora: Profa. Dra. Priscila Jane Romano Gonçalves Selari.

As bactérias associativas são versáteis na promoção do crescimento vegetal, pois são capazes de fixar nitrogênio, sintetizar fitormônios, solubilizar nutrientes e aumentar a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos. Nesse sentido, o presente estudo objetivou avaliar o crescimento vegetativo de milho verde com diferentes doses de Nitrogênio (N) mineral e com *Azospirillum brasilense*; avaliar o tratamento químico e da inoculação com *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Priestia aryabhattai* na germinação de sementes de milho. Foram realizados dois experimentos: **A)** Delineamento em blocos casualizados com 20 tratamentos e 4 blocos, em um esquema fatorial de 2 x 2 x 5, sendo: inoculação, utilizando o inoculante comercial Biomax® Azum (AbV5), aplicado no tratamento de sementes e o controle sem inoculação; 2 condições de água (irrigado e supressão hídrica) e 5 doses de N (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹). Os dados foram submetidos à análise de regressão quadrática, ao nível de 5% de probabilidade e ANOVA. **B)** Delineamento inteiramente casualizado em um esquema fatorial de 2 x 5: 2 tratamentos químicos de sementes (com e sem) e 5 inoculantes: *B. subtilis*, *P. aryabhattai*, *B. amyloliquefaciens*, *A. brasilense* e controle, sem inoculação. Cada tratamento foi composto por 200 sementes, sendo um conduzido em laboratório e outro em canteiro com areia. Observou-se que: **A)** a aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N possibilitou o maior resultado para altura da planta, massa seca da raiz, volume de raiz e massa fresca de raiz aos 90 DAE (dias após emergência). O número de folhas vivas, número de folhas totais, altura de plantas, volume de raízes, clorofila total e temperatura de folhas é maior nos tratamentos sem supressão hídrica; **B)** foi observado que a inoculação de sementes de milho com as bactérias *A. brasilense* e *P. aryabhattai*, juntamente com o tratamento controle, proporcionaram maior comprimento de parte aérea e de raiz das plântulas em laboratório. As bactérias *B. subtilis* e *P. aryabhattai* associadas às sementes sem o tratamento químico proporcionam maior massa seca de raízes. Para o teste em canteiro com areia, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou a maior germinação, maior número de folhas, volume de raízes e altura de plântulas de milho, não diferindo estatisticamente do controle para todas essas variáveis e de *P. aryabhattai* para as variáveis altura de plântulas e número de folhas. A inoculação de *A. brasilense* em sementes tratadas com fungicidas e inseticidas proporcionou maior massa seca de raiz, sendo associado ao maior volume de raízes. Conclui-se que as bactérias *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. aryabhattai* promovem incrementos significativos para a germinação e crescimento inicial de plântulas de milho.

PALAVRAS-CHAVE: bioinsumos, déficit hídrico, germinação, inoculação, sementes, *Zea mays* L.

ABSTRACT

XAVIER, POLLIANY SANTOS. Goiano Federal Institute, Ceres Campus, Goiás State (GO), Brazil, November, 2024. **Bacteria promoting plant growth in the germination and vegetative growth of green corn crops.** Advisor: Prof. Dr. Selari, Priscila Jane Romano Gonçalves.

Associative bacteria are versatile in promoting plant growth as they are able to fix nitrogen, synthesize phytohormones, solubilize nutrients, and increase plant tolerance to biotic and abiotic stresses. In this sense, this paper aimed to evaluate the vegetative growth of green corn with different doses of mineral Nitrogen (N) and *Azospirillum brasilense*, and to evaluate the chemical treatment and inoculation with *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, and *Priestia aryabhattai* in the germination of corn seeds. Two experiments were carried out being: (a) **(A)** Randomized block design with 20 treatments, 4 replicates, and 4 blocks, arranged in a 2x2x5 factorial scheme; commercial inoculant Biomax® Azum (AbV5) in seed treatment, control without inoculation, two contrasting water conditions (irrigated and water suppression), and five doses of N (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹) were applied. The data were subjected to quadratic regression analysis, at a 5% probability level and ANOVA; (b) **(B)** completely randomized design arranged in a 2x5 factorial scheme with 2 chemical seed treatments (with and without) and 5 inoculants as *Bacillus subtilis*, *Priestia aryabhattai*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Azospirillum brasilense* and control without inoculation were applied. Each treatment consisted of two hundred seeds, one of which was carried out in the laboratory and the other one in a seedbed with sand. It was found in **(A)** that the application of N at 120 kg ha⁻¹ dose enabled the greatest result for plant height, root dry mass and volume, and root fresh mass at 90 days after emergence (DAE). The number of living leaves, number of total leaves, plant height, root volume, total chlorophyll, and leaf temperature are higher in treatments without water suppression. In **(B)**, it was found that the inoculation of corn seeds with the *A. brasilense* and *P. aryabhattai* bacteria together with the control treatment provided greater length of the seedling aerial and root parts in laboratory. The *B. subtilis* and *P. aryabhattai* bacteria associated with seeds without chemical treatment provided greater root dry mass. Inoculation with *A. brasilense* provided greater germination, greater number of leaves, root volume, and seedling corn height in the test in a seedbed with sand, not differing statistically from the control, while *P. aryabhattai* showed greater germination for the seedling height and number of leaves variables. The *A. brasilense* inoculation in seeds treated with fungicides and insecticides provided greater root dry mass associated with greater root volume. It is concluded that *A. brasilense*, *B. subtilis*, and *P. aryabhattai* bacteria promote significant increases in the germination and initial growth of corn seedlings.

Keywords: *Zea mays* L. Bioinputs. Germination. Inoculation. Seeds. Water deficit.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O milho é uma das commodities mais significativas, sendo utilizado desde a alimentação animal e humana até a produção de biocombustíveis (Vieira et al., 2019). No caso do milho verde, alimento tradicional do Brasil, a produção é menor, oriunda de pequenas e médias propriedades (Nascimento et al., 2017).

Os solos brasileiros, principalmente os do Cerrado, apresentam como característica a baixa fertilidade natural, o que influencia negativamente no rendimento da cultura do milho. Desse modo, faz-se necessária a correção do solo para adequar às necessidades da planta. Entre os nutrientes que podem trazer essa diminuição de rendimento na produtividade do milho verde, pode-se destacar o nitrogênio (N), que participa diretamente no metabolismo celular vegetal, compondo enzimas, proteínas e diversos processos fisiológicos vitais, como na fotossíntese (Prado, 2020).

O milho apresenta grande demanda por N, a ureia é o fertilizante nitrogenado mineral mais utilizado, proporcionando aumento de produtividade quando bem manejado. Portanto, a alternativa para uma eficiência da adubação nitrogenada é a fixação biológica de nitrogênio (FBN), proveniente dos insumos biológicos (Moreno et al., 2019).

Dentre as espécies utilizadas com BPCP's (bactérias promotoras de crescimento de plantas), destacam-se o *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Priestia aryabhattai*, *Bacillus licheniformis* e *Pseudomonas fluorescens*, que possuem capacidade de estimular o crescimento vegetal, por meio de fornecimento de hormônios vegetais como as auxinas, giberelinas citocininas e também na redução de etileno. Além disso, podem atuar no controle biológico e na produção de indutores de resistência a estresses bióticos ou abióticos (Machado et al., 2020).

As BPCP's têm sido empregadas pelos produtores rurais que buscam sustentabilidade na produção agrícola. Desse modo, os usos de bioinsumos, em especial de bioinoculantes, ganham destaque no cenário mundial por serem capazes de atuar como bioinseticidas ou biofertilizantes, assegurando a saúde e o crescimento das plantas, proporcionam maior produtividade das culturas (Khatoon et al., 2020; Basu et al., 2021), qualidade das lavouras e dos frutos (Rouphael; Colla, 2018).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o crescimento vegetativo de milho verde com diferentes doses de N mineral com *Azospirillum brasilense*, avaliar o efeito do tratamento químico e da inoculação com *A. brasilense*,

Bacillus subtilis, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Priestia aryabhattai* na germinação de sementes de milho AG 1051 em laboratório e em canteiro de areia.

2. OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

Analisar a inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas de milho verde sob déficit hídrico, diferentes doses de N na germinação e crescimento inicial de milho com ou sem tratamento químico.

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar as variáveis de crescimento vegetativo e o rendimento de massa seca de raiz de milho verde cultivado com diferentes doses de N mineral, na presença e ausência de inoculação com *Azospirillum brasilense* via semente, submetido ao déficit hídrico.

Avaliar a germinação e variáveis de crescimento de plântulas de milho cultivar AG 1051, inoculado e não inoculado com *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Priestia aryabhattai* via semente, tratado e não tratado quimicamente em laboratório e em canteiro com areia.

3. CAPÍTULO I

3.1.REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

3.1.1. Cultura do milho

O milho pertence à ordem *Gramineae*, família *Poaceae*, tribo *Maydeae*, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. Os grãos do milho possuem coloração amarela ou branca, podendo variar da preta à vermelha. O milho se destaca como sendo um dos principais grãos de cereais cultivados em todo o mundo, presente na dieta básica de povos da América Latina, Ásia e África (Cardoso et al., 2021).

Essa espécie é anual, monocotiledônea, tendo apenas um caule, do tipo ereto, podendo apresentar de 12 a 20 folhas. É uma planta do tipo C4 eficiente na conversão de CO₂, que se adapta a diferentes tipos de ambientes (Fancelli & Dourado Neto, 2000). Em relação às condições edáficas, a planta se desenvolve melhor em solos bem estruturados com circulação de água e ar, textura média, com disponibilidade de nutrientes adequados às necessidades da cultura, pH entre 5 e 8, tendo maior crescimento de colmo e folhas com temperatura do ar entre 25 e 35°C, sendo sua maior produção em temperatura entre 21 e

27°C (Andrade, 2000).

O milho pode ter tido origem nas Américas, possivelmente no México, América Central ou Sudoeste dos Estados Unidos. Após o seu descobrimento, o milho foi levado para a Europa e cultivado em jardins até que se verificassem o valor alimentício dele. A partir de então, passou a ser cultivado em todos os continentes (Araújo, 2014).

Segundo Giordano et al. (2018), o consumo dos grãos de milho varia desde a forma *in natura* até os processados, como: milho em conserva, farinha de milho, amido de milho, cereais matinais e alimentação animal, por exemplo.

3.1.2. Importância econômica da cultura do milho AG 1051

O milho Agrocere (AG) 1051 é uma cultivar que foi lançada em 30/09/1998, data do registro nacional de cultivares (RNC) do Ministério da Agricultura. Foi o primeiro material genético de milho com tripla aptidão: consumo de milho-verde, produção de grãos e produção de silagem. Essa cultivar apresenta boa resistência ao acamamento, sendo indicado para áreas de média a alta tecnologia. O porte da cultivar 1051 é alto, apresentando grão do tipo de cariopse dentado amarelo (Pereira Filho, 2002; Silva et al., 2021).

A cultivar AG 1051 é o híbrido com melhor adaptabilidade ao cultivo de milho verde para consumo *in natura*, como espigas cozidas, pamonha, bolo, curau, cuscuz, dentre outras riquezas da culinária brasileira. Essa cultivar apresenta ampla janela de colheita, alta adaptabilidade a diferentes condições de cultivo e manejo, bem como capacidade de suportar altas populações de plantas, cerca de 60.000 por hectare (Sousa et al., 2022).

No Brasil, a cultivar mais plantada é o AG 1051 para ser consumido verde. De acordo com Valentini & Shimova (2008), o milho verde deve possuir grãos do tipo dentado (moles) e macio, espigas grandes, grossas, bem empalhadas, ponto de pamonha prolongado, para possibilitar maior tempo de comercialização e resistência ao murchamento.

Para Santos et al. (2015), o cultivo do milho para colheita de espigas verdes é uma atividade alternativa para pequenos produtores, porque apresenta maior valor de comercialização quando comparado ao milho para produção de grãos.

3.1.3. Importância da adubação nitrogenada para o milho

O nitrogênio (N) é o nutriente absorvido em maior quantidade pelo milho e o mais limitante para a cultura, devido sua alta exigência pelo nutriente (Bertasello et al., 2020).

O N é constituinte essencial das proteínas e interfere diretamente no processo fotossintético das plantas, sendo, portanto, o insumo que mais eleva o custo de produção. Assim, a adubação nitrogenada é indispensável. No entanto, apenas 50% do N aplicado no solo é aproveitado pelas plantas, pois o restante é perdido por lixiviação, volatilização e desnitrificação (Silva et al., 2021).

Oliveira et al. (2023) apontam que a absorção de nitrogênio pela cultura do milho acontece principalmente na fase vegetativa, sendo necessário o N disponível em quantidade suficiente para atender o requerimento nesta fase, a fim de não comprometer a produtividade da cultura. Porém, é preciso observar que os diferentes materiais genéticos de milho requerem quantidades diferentes de nitrogênio.

O parcelamento do nitrogênio é uma prática muito relevante para aumentar a absorção do nutriente, porque permite que as plantas tenham o nutriente disponível no solo por mais tempo, ou seja, à medida que é requerido pela planta, isso se deve à interação do nitrogênio com o ambiente que é muito rápida, principalmente se houver disponibilidade de água (Vieira, 2017).

3.1.4. Interação planta-bactérias diazotróficas associativas

As bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV), pertencem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas, habitantes do solo, que possuem capacidade de colonizar a rizosfera, o rizoplane, a filosfera e os tecidos internos das plantas, incluindo raízes, nódulos de leguminosas, caule, folhas, frutos e sementes. As BPCV estimulam o crescimento das plantas por meio de processos microbianos como a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN). Dentre as BPCV, temos em destaque, associado às gramíneas, o gênero *Azospirillum* (Hungria & Nogueira, 2022).

O processo de FBN é realizado por bactérias que vivem naturalmente em vários ambientes, incluindo o solo, e que são capazes de romper a tripla ligação que une os dois átomos de N na molécula de N_2 , reduzindo-o e produzindo duas moléculas de amônia (NH_3) (Hungria et al., 2007). As bactérias do gênero *Azospirillum* são classificadas como associativas, colonizando o interior das plantas, além da superfície de raízes, caules, colmos e folhas, onde realizam a FBN. Diferente do sistema simbiótico, as bactérias do sistema associativo não induzem a formação de nódulos nas plantas. Embora sejam capazes de realizar a FBN, a contribuição das bactérias associativas para a nutrição vegetal (fornecimento direto de N) não é tão expressiva como observado no sistema

simbiótico. Nesse sistema, as bactérias se encontram no interior dos nódulos, em íntima relação com a planta hospedeira, o que minimiza perdas por interferência dos vários fatores químicos, físicos e biológicos (Moreira et al., 2013; Veronezi, Ribeiro, Ceccon, 2018).

Bactérias associativas já foram isoladas de várias espécies vegetais, incluindo leguminosas. No entanto, elas são isoladas facilmente de gramíneas (Poaceae), as quais são beneficiadas com essa associação, apresentando grande importância agrícola e ambiental, considerando-se a totalidade da área da superfície terrestre recoberta por essas espécies vegetais (Almeida, 2022).

No Brasil, há 70 anos, a pesquisadora Johanna Döbereiner foi a pioneira ao iniciar as pesquisas sobre bactérias diazotróficas associativas, relatando, pela primeira vez, a ocorrência de bactérias do gênero *Azotobacter* em solos ácidos. Em espécies vegetais como o milho, arroz, braquiária e cana-de-açúcar, pode-se encontrar, em condições naturais, grandes populações de bactérias diazotróficas associativas. Embora a FBN realizada pelo sistema associativo não seja tão eficiente quanto a realizada pelo sistema simbiótico, o sistema associativo possui papel importante nos ecossistemas a longo prazo (Almeida, 2022).

As bactérias associativas são versáteis na promoção do crescimento vegetal. Além de serem capazes de fixar nitrogênio, elas podem promover o crescimento das plantas por intermédio da síntese de fitormônios, como auxinas, giberelinas e citocininas. Além disso, essas bactérias podem sintetizar compostos de baixa massa molecular, conhecidos como sideróforos, os quais são compostos quelantes de íons de ferro, que podem inibir o crescimento de alguns fungos fitopatogênicos devido à limitação desse elemento para o crescimento fúngico. Bactérias associativas são capazes ainda de auxiliar a planta na absorção de fósforo por meio da solubilização de fosfatos inorgânicos (Almeida, 2022).

A interação planta-bactérias diazotróficas associativas implica em maior desenvolvimento de raízes, com incremento na absorção de água e nutrientes minerais, melhorando o aproveitamento de fertilizantes nitrogenados minerais, além de promover maior tolerância a estresses abióticos como salinidade e seca, além de bióticos como agentes patogênicos (Hungria et al., 2010; Hungria & Nogueira, 2022).

3.1.5. Gênero *Azospirillum*

A descoberta da pesquisadora da Embrapa, Dra. Johanna Döbereiner (1924-2000), tornou-se histórica, pois uma bactéria capaz de realizar a fixação biológica do nitrogênio,

quando associada às gramíneas, foi o marco da época. A bactéria do gênero *Azospirillum*, capaz de fixar nitrogênio em vida livre, inicialmente era classificada como *Spirillum* (Tarrand et al., 1978), sendo, mais tarde, adicionado o prefixo “azo”, alusivo ao nome utilizado por Lavoisier para denominar o elemento nitrogênio (Hungria, 2011).

O gênero *Azospirillum* apresenta bactérias associativas, que diferente das bactérias simbióticas, excretam parte do nitrogênio fixado diretamente para a planta associada, contribuindo para o aporte adicional de N para a planta. Isso ocorre devido o mesmo complexo da nitrogenase realizar a conversão, rompendo a tripla ligação do N₂ da atmosfera e reduzi-lo em amônia (Hungria, 2011).

A bactéria *Azospirillum brasilense* promove benefícios para as plantas, como a produção de substâncias promotoras de crescimento, a fixação biológica de nitrogênio (FBN), acarretando em maiores o desenvolvimento das raízes, da eficiência da absorção de nutrientes minerais e água, da tolerância a estresses com a seca e a salinidade do solo, tornando as plantas mais vigorosas (Oliveira et al., 2018).

Segundo Hungria (2011), a Embrapa Soja e o grupo da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, realizaram ensaios de laboratório e testes de eficiência agrônômica de *Azospirillum* em campo. Os resultados apresentados neste estudo resultaram na autorização pelo MAPA das estirpes de *A. brasilense* Ab-V4, Ab-V5, Ab-V6 e Ab-V7 para a produção de inoculantes para a cultura do milho, uma vez que essas estirpes apresentaram incrementos no rendimento de grãos de 662 a 823 kg ha⁻¹, ou 24% a 30% em relação ao controle não inoculado (Junior Bassetto et al., 2020).

A inoculação de bactérias do gênero *Azospirillum*, que são microrganismos fixadores de nitrogênio, além de fixar N atmosférico, sintetizam fitormônios, solubilizam fosfato inorgânico e estimulam o desenvolvimento da parte aérea e das raízes, aumentando, assim, o aproveitamento de fertilizantes nitrogenados minerais pelo milho, diminuindo o custo de produção da cultura (Bensen et al; 2020; Duarte, Ruff, Santos, 2021).

De acordo com Fancelli (2010), a inoculação de *Azospirillum* do milho pode gerar a economia de 30 a 50 kg ha⁻¹ de fertilizantes minerais nitrogenados. Trata-se de uma alternativa capaz de diminuir o uso de adubos nitrogenados, alcançando uma economia igual ou superior àquela verificada em leguminosas. Vitto (2023) cita que esses microrganismos também são capazes de aumentar a produção de estímulos provocados por fitormônios como auxinas, citocininas, giberelinas, aumento da produção e atividade de enzimas como a ACC-deaminase, que atua na redução dos níveis de etileno, atrasando a senescência da planta e a mantendo por mais tempo verde, mesmo quando a espiga se

encontra em adiantado estágio de maturação (*Stay green*).

3.1.6. Gênero *Bacillus*

O gênero *Bacillus* pertence à família *Bacillaceae*, no qual a cepa JS19 foi identificada, é composta por mais de 200 espécies que possuem a forma de bacilo. São bactérias Gram-positivas, produtoras de endósporos, que possuem ampla diversidade de funções metabólicas, incluindo propriedades surfactantes e promotoras de crescimento vegetal, por meio da produção de fitormônios, que estimulam o crescimento das plantas (Moreira; Siqueira, 2006).

As Rizobactérias do gênero *Bacillus* são amplamente utilizadas para compor inoculantes bacterianos com objetivo de aplicação em plantas. A natureza heterotrófica torna essas rizobactérias importantes no ciclo do carbono e do nitrogênio como desnitrificantes, fixadores e degradadores do nitrogênio orgânico (Vitto, 2023).

Pertencente ao gênero *Bacillus*, a *Bacillus amyloliquefaciens* é uma espécie bacteriana de vida livre no solo, sua nomenclatura foi dada pelo japonês J. Fukumoto, devido à capacidade de realizar a liquefação do amido (*amylo* + *lique* + *faciens*). Tornou-se conhecida por ser uma bactéria promotora do crescimento de diversas espécies de plantas (Abreu et al. 2022).

A utilização na agricultura das bactérias promotoras de crescimento de plantas como as do gênero *Bacillus* e *Azospirillum* tem se mostrado importante na busca de uma agricultura mais sustentável, que cause menor dano ao meio ambiente (Marques, 2019).

Bactérias do gênero *Bacillus* são grandes promotoras de crescimento de plantas (BPCP). As bactérias desse gênero, incluindo *B. amyloliquefaciens*, atuam na promoção do crescimento vegetal pelos mecanismos diretos e indiretos, como na produção de fitormônios, compostos antifúngicos e na aquisição de fósforo e nitrogênio (Abreu et al. 2022).

De acordo com Oliveira et al. (2024), a inoculação em sementes com microrganismos apresenta diversos benefícios para o desenvolvimento de plantas, como a melhoria na germinação, emergência de plântulas, enraizamento e disponibilidade de nutrientes. Neste contexto, as rizobactérias do gênero *Bacillus* se destacam como uma das principais para o crescimento vegetal.

Dentre as bactérias utilizadas para a produção de inoculantes comerciais à base de BPCP, destaca-se o gênero *Bacillus*, especialmente, a espécie *Bacillus subtilis*, não patogênica, comumente encontrada no solo (Hwang et al., 2021). Chagas Júnior et al.

(2022) observaram em isolados de *B. subtilis* a eficiência nas variáveis de biomassa da parte aérea e radicular de plantas de soja, com destaque para o isolado *B. subtilis* Bs10.

As *Bacillus* spp. estão se destacando por serem um grupo de bactérias Gram-positivas, amplamente distribuídas no ambiente, composto por aproximadamente 360 espécies que apresentam características fisiológicas, metabólicas e fenotípicas distintas (Paiva et al., 2020).

Diferentes espécies desse gênero têm sido relatadas como potenciais promotoras de crescimento de plantas em razão das características multifuncionais como a solubilização de fosfato (Bahadir et al., 2018); a produção de ácido indol-acético (AIA) e outros fitormônios (Mohite, 2013); a produção de sideróforos-quelantes específicos de íons de ferro (Bjelić et al., 2018) e a capacidade de biocontrole de patógenos de plantas (Shafi et al., 2017).

Aquino et al. (2019), estudando bactérias endofíticas, promotoras de crescimento de plantas em milho e sorgo, constataram que os isolados IPACC26 e IPACC30, ambos identificados como *Bacillus subtilis*, têm melhor efeito sobre o acúmulo de nitrogênio no milho. Clemente et al. (2016) notaram um expressivo aumento na produtividade em lavoura de cenoura após a aplicação de composto fermentado com linhagens selecionadas de *Bacillus* spp.

O gênero *Priestia* é uma reclassificação do gênero *Bacillus* e apresenta alta similaridade com esse gênero. No início da década de 90, a comunidade científica revisou a relação filogenética desse gênero de microrganismos e, devido à sua heterogeneidade, algumas espécies que eram consideradas do gênero *Bacillus* foram reclassificadas em mais de 10 diferentes gêneros, como *Priestia*, *Geobacillus* e *Paenibacillus* (Ash; Priest; Collins, 1993). Segundo Grupta et al. (2020), um total de 17 novos gêneros individuais foram reclassificados a partir de *Bacillus*. O gênero *Priestia*, por exemplo, contém as antigas espécies, *Bacillus megaterium*, *Bacillus abyssalis*, *Bacillus aryabhattai*, *Bacillus endophyticus*, entre outras.

A cepa bacteriana CMAA 1363 de *Bacillus aryabhattai*, isolada da região rizosférica da espécie cactácea *Cereus jamacaru*, confere tolerância à deficiência hídrica no milho (Kavamura et al., 2017). Silva e Silva (2023) concluíram que as doses do produto à base de *B. aryabhattai* no tratamento de sementes influenciaram a germinação das sementes de soja sob condições de estresse hídrico.

3.2.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, L.P.S.; MARTINAZZO, A.P.; TEODORO, C.E.S.; BERBERT, P.A.; ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL DE USO DE *Bacillus amyloliquefaciens* NO BIOCONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS: UMA REVISÃO; **Revista de Ciências Ambientais**; Canoas, v. 16, n. 1, 2022. DOI: <https://doi.org/10.18316/rca.v16i1.8339>
- ALMEIDA, S.C.M.; **Seleção de bactérias diazotróficas não simbióticas solubilizadoras de fosfatos**; 2022. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/bitstream/123456789/9927/1/Sele%C3%A7%C3%A3o%20de%20bact%C3%A9rias%20diazotr%C3%B3ficas%20n%C3%A3o%20simbi%C3%B3ticas%20solubilizadoras%20de%20fosfatos..pdf> Acesso em: 15/08/2024.
- AQUINO, DE J. P. A.; JUNIOR, DE F. B. M.; ANTUNES, J. E. L.; FIGUEIREDO, M.V. B.; NETO, F.A.; ARAÚJO, DE A. S. F. Bactérias endofíticas promotoras de crescimento de plantas em milho e sorgo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**; v. 49, p. 1 - 9, Goiânia. 2019. <https://doi.org/10.1590/1983-40632019v4956241>
- ARAÚJO, E. O.; **QUANTIFICAÇÃO DA CONTRIBUIÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS NA ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO PELA CULTURA DO MILHO**; Dourados, MS; UFGD, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/bitstream/prefix/435/1/EricenseOliveiraAraujo.pdf> Acesso em: 05/08/2024.
- ASH, C.I; PRIEST, F. G.; COLLINS, M. D. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test. **Antonie van leeuwenhoek**, v. 64, n. 3, p. 253-260, 1993. DOI:10.1007/BF00873085
- BAHADIR, P. S.; LIAQAT, F.; ELTEM, R. Plant growth promoting properties of phosphate solubilizing *Bacillus* species isolated from the Aegean Region of Turkey. **Turkish Journal of Botany**, v. 42, n. 2, p. 183-196, 2018. <https://doi.org/10.3906/bot-1706-51>
- BENSEN, M.R.; RIBEIRO, R.H.; GOETTEN, M.; FIOREZE, S.L.; GUGINKI-PIVA, C.A.; PIVA, J.T. Produtividade de milho e retorno econômico em sistema integrado de produção com doses de nitrogênio. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, SC, v.19, n.1, p.94-103, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5965/223811711912020094>
- BERTASELLO; L.E.T.; COELHO; A.P.; MÔRO, G.P.; Divergência genética de genótipos de milho cultivados sob adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense*; **Agroecossistemas**; v. 12, n. 2, p. 69 – 89, 2020.
- BJELIĆ, D.; MARINKOVIĆ, J.; TINTOR, B.; MRKOVAČKI, N. Antifungal and plant growth promoting activities of indigenous rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) rhizosphere. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 49, n. 1, p. 88-98, 2018.
- CARDOSO, I. R. M.; ECKARDT, M.; AFFÉRI, F. S.; MARTINS, G. A. S.; PELUZIO, J. M.; MOURA, J. S.; SANTOS, P. C. L.; BORGES, L. J. F.; BIASE, R. S. Rendimento do milho doce e verde para consumo "*in natura*" cultivados no Tocantins;

Research, Society and Development, v. 10, n. 3, e11910313082, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13082>

CHAGAS JUNIOR, A.F.; BRAGA JUNIOR, G.M.; LIMA, C.A.; MARTINS, A.L.L.; SOUZA, M.C.; CHAGAS, L.F.B.; *Bacillus subtilis* como inoculante promotor de crescimento vegetal em soja; **Diversitas Journal**; v. 7, n. 1; pp. 0001-0016; jan./abr. 2022.

CLEMENTE, Junia Maria et al. Use of *Bacillus* spp. as growth promoter in carrot crop. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 35, p. 3355-3359, 2016.

DUARTE, J. P.; RUFF, O. J.; SANTOS, C. L. R. Inoculação de milho com inoculante à base de *Azospirillum brasilense* sob doses de nitrogênio em solo arenoso. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 8, 2021. DOI: 10.36560/14820211391

FANCELLI, A.L. Boas práticas para o uso eficiente de fertilizantes na cultura do milho. Piracicaba: **IPNI -International Plant Nutrition Institute Brazil**, 2010. 16p. (IPNI. Informações Agronômicas, 131); 2010

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D.; **Ecofisiologia e fenologia**; Produção de Milho. p.21-54; Guaíba: Agropecuária, 2000.

GIORDANO, D.; BETA, C.; VANARA, F.; BLANDINO, M. *Influence of Agricultural Management on Phytochemicals of Colored Corn Genotypes (Zea mays L.)*; Part 1: Nitrogen Fertilization. **J. Agric. Food Chem**, v. 66, n.17, p.4300-4308, 2018. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b00325

GUPTA, R. S.; PATEL, S.; SAINI, N.; CHEN, S. *Robust demarcation of 17 distinct Bacillus species clades, proposed as novel Bacillaceae genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: Description of Robertmurraya kyonggiensis sp. nov. and proposal for an emended genus Bacillus limiting it only to the members of the Subtilis and Cereus clades of species*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 11, p. 5753-5798, 2020. DOI: 10.1099/ijsem.0.004475

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C.; **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**; Londrina: Embrapa Soja, 2007.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O.; Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil; **Plant Soil** ; 331:413–425; 2010.

HUNGRIA, M.; **Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo**; Londrina: Embrapa Soja, 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/879471/1/DOC325.2011.pdf> Acesso em: 04/08/2024.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Fixação biológica do nitrogênio. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (ed.). **Bioinsumos na cultura da soja**. Brasília, DF: Embrapa, 2022a. cap. 8, p. 143-162.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M.A.; **Inoculação do milho com as estirpes Ab-V5 e Ab-V6 DE *Azospirillum brasilense*: redução na adubação nitrogenada de cobertura e mitigação na emissão de gases de efeito estufa**; Londrina : Embrapa Soja; 36 p.; 2022b.

JUNIOR BASSETTO, N.; ALVES, G.H.T.; BELLETTINI, S.; BELLETTINI, N.M.T. (in memorian); Nitrogen splitting and seed inoculation with *Azospirillum Brasilense* in corn culture; **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v.6, n.11, p. 89544-89663, nov.2020.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; TAKETANI, R. G.; VASCONCELLOS, R. L. F.; MELO, I. S. *Draft genomes equence of plant growth-promoting drought tolerant Bacillus sp. Strain CMAA 1363 isolated from the Brazilian caatinga biome. Genome Announ cements*, v.5, n.5, p. e01534-16, 2017. DOI: 10.1128/genomeA.01534-16

MARQUES, DANIELE MARIA. **Déficit hídrico e doses de nitrogênio na morfofisiologia e produção de genótipos de milho inoculados por *Azospirillum brasilense*** / Daniele Maria Marques.- 2019.

MOHITE, B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 13, n. 3, p. 638-649, 2013.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006.

OLIVEIRA, A.O.; COSTA, A.C.P.R.; ZUCARELI, V.; Inoculação com *Azospirillum brasilense*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, e *Bacillus megaterium* em sementes de milho; **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**; v. 13; n. 01; p. 105-126; 2024.

OLIVEIRA, D. T. M.; ANDRADE, C. L. L.; CABRAL FILHO, F. R.; TEIXEIRA, M. B.; FERREIRA, T. M. Avaliação biométrica do uso de diferentes fontes de nitrogênio no milho safrinha. **Brazilian Journal of Science**, v. 2, n.1, p. 63-71, 2023. DOI:10.14295/bjs.v2i1.252

OLIVEIRA, I. J., FONTES, J. R. A., PEREIRA, B. F. F., & MUNIZ, A. W. Inoculation with *Azospirillum brasiliense* increases maize yield. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 5. p. 1-9; 2018.

PAIVA, C.A.O.; MARRIEL, I.E.; GOMES, E.A.; COTA, L.V.; SANTOS, F.C.; SOUSA, S.M.; LANA, U.G.P.; OLIVEIRA, M.C.; MATTOS, B.B.; ALVES, V.M.C.; RIBEIRO, V.P.; VASCO JÚNIOR, R. Recomendação agronômica de cepas de *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) na cultura do milho; **Circular Técnica 260**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, fev.2020. 18p.

PEREIRA FILHO, I. A. **O Cultivo do Milho Verde**. 1.ed. Sete Lagoas-MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 217p.

SANTOS, N. C. B., CARMO, S. A., MATEUS, G. P., KOMURO, L. K., PEREIRA, L. B., & SANTOS, L. C. D. Características agronômicas e de desempenho produtivo de cultivares de milho-verde em sistema orgânico e convencional. **Semina: Ciências Agrárias**, 36, (3), 1807-1822; 2015.

SHAFI, J.; TIAN, H.; JI, M. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 31, n. 3, p. 446-459, 2017.

SILVA, D. C.; COSTA, N.; ARAÚJO, J. C.; SILVA, A. V.; XAVIER, G. F.; FERREIRA, J. P.; OLIVEIRA, L. C.; ALVES, G. C. Avaliação da adubação nitrogenada associada à inoculação com bactérias *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.10, p. 99862-99881, 2021.

SILVA, I.P.C.; SILVA, W.F.; Tolerância ao déficit hídrico na germinação de sementes de soja tratadas com *Bacillus aryabhattai*; **Revista Cerrado Agrociências**; v. 14; p. 46-55; 2023.

SOUSA, D.D.A.; PEREIRA, F.H.F.; SILVA, F.A.; FERNANDES, J.E.M.; GONDIM, A.R.O.; SILVA, W.I.; Produtividade e armazenamento pós-colheita de híbridos duplos comum e triplo transgênico de milho para consumo de espigas verdes; **Research Society and Development**, v. 11, n. 13; 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i13.35744>.

TARRANT, J.J.; KRIEG, N R.; DÖBEREINER, J. A taxonomic study of the *Spirillum* lipoferum group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Canadian Journal of Microbiology**, v.24, p.967-980, 1978.

VALENTINI, L.; SHIMOYA, A. **Comportamento de cultivares de milho verde em Campos dos Goytacazes- Região Norte Fluminense**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife, PE. Globalização e segurança alimentar – resumos expandidos. Recife: ABMS, 1998.

VERONEZI, S.D.F., RIBEIRO, L.M., CECCON, G.; Uso de *Azospirillum brasilense* em milho safrinha solteiro e consorciado com *Brachiaria ruziziensis*; **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**; v. 12(4), p. 349-360, 2018.

VIEIRA, R F.; **Ciclo do Nitrogênio em Sistemas Agrícolas**. Brasília- DF: Embrapa Meio Ambiente, 2017. 163p.

VITTO, D.C.; **Interação entre bactérias promotoras de crescimento vegetal e fertilização com cama de frango na cultura do milho**; MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ 2023.

4. CAPÍTULO II

EFICIÊNCIA AGRONÔMICA DA INOCULAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM* *BRASILENSE* ASSOCIADA À ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO MILHO VERDE

RESUMO

A utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) vem se mostrando uma ótima alternativa para a cultura do milho. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento vegetativo de milho cultivado com diferentes doses de Nitrogênio (N) mineral e com inoculação de *Azospirillum brasilense*. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com 20 tratamentos e 4 repetições, dispostos em um esquema fatorial de 2 x 2 x 5 (inoculação Biomax® Azum (AbV5) (*A. brasilense*), aplicado via tratamento de sementes e controle sem inoculação; duas condições de água (irrigado e supressão hídrica) e 5 doses de N: 0, 40, 80, 120 e 160 kg ha⁻¹), totalizando 80 unidades experimentais. A cultivar de milho utilizada foi a AG 1051. Nas condições deste estudo, não se tem interação significativa entre *A. brasilense* e doses de nitrogênio. A aplicação de 160 kg ha⁻¹ de N proporcionou maiores resultados para altura de planta aos 20 DAE (dias após emergência), diâmetro de colmo, número total de folhas vivas e índice de clorofila total. A aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N possibilitou o maior resultado para altura da planta, massa seca da raiz, volume de raiz e massa fresca de raiz aos 90 DAE. O número de folhas vivas, número de folhas totais, altura de plantas, clorofila total e temperatura de folhas é maior nos tratamentos sem supressão hídrica. A supressão hídrica possibilitou maior desenvolvimento do volume de raízes com aplicação conjunta de micro-organismos.

PALAVRAS-CHAVE: bactérias promotoras de crescimento de plantas, nitrogênio, inoculante, fertilizante.

AGRONOMIC EFFICIENCY OF *AZOSPIRILLUM* *BRASILENSE* INOCULATION ASSOCIATED WITH NITROGEN FERTILIZATION IN GREEN CORN CROPS

ABSTRACT

Using bacteria promoting plant growth (BPG) has proven to be a great alternative for corn crop. In this sense, this paper aimed to evaluate the corn vegetative growth cultivated with different doses of mineral nitrogen (N) and inoculating *Azospirillum brasilense*. The experimental design was in randomized blocks with 20 treatments and 4 replicates, arranged in a 2x2x5 factorial scheme with Biomax® Azum (AbV5) and *A. brasilense* inoculation applied through seed treatment and control without inoculation, two water conditions (irrigated and water suppression), and five N doses (0, 40, 80, 120, and 160 kg ha⁻¹), totaling 80 experimental units. The corn cultivar was AG 1051. Under this study conditions, there was no significant interaction between *A. brasilense* and nitrogen doses. The application of 160 kg ha⁻¹ N provided greater results for plant height at 20 days after emergence (DAE), stem diameter, total number of live leaves, and total chlorophyll index. The application of 120 kg ha⁻¹ N doses provided the best results for plant height, root dry mass, root volume, and root fresh mass at 90 DAE. The number of live leaves, total number of leaves, plant height, total chlorophyll, and leaf temperature are higher in treatments without water suppression. Water suppression enabled greater development of root volume with joint application of microorganisms.

KEYWORDS: Bacteria promoting plant growth. Fertilizer. Inoculant. Nitrogen.

4.1. INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.), do ponto de vista econômico e social, é uma das culturas mais importantes mundialmente, também está inserida na estrutura da cadeia produtiva e alimentar brasileira (Lemos et al., 2020). De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2024), o milho é cultivado em todas as microrregiões do Brasil, com a produção da safra 2023/24 foi de 115,7 milhões de toneladas, considerando as três safras. O Brasil se destaca como o terceiro maior produtor mundial do cereal, atrás apenas dos Estados Unidos e da China (CONAB, 2024).

Dentre os nutrientes requeridos pelas culturas, o nitrogênio é o nutriente mineral mais exigido por ser constituinte de aminoácidos, proteínas e vários outros compostos vegetais. A maior parte do N utilizado pelas plantas cultivadas é proveniente da aplicação de fertilizantes nitrogenados. No entanto, esses fertilizantes apresentam baixa eficiência de utilização pelas plantas (~50%) (Pontes, 2021).

Rocha et al. (2020) relatam que a cada 100 kg de N aplicados no solo, 50 kg poderão ser perdidos pelos processos de lixiviação (lavagem no perfil do solo por percolação ou escoamento superficial) e transformação em formas gasosas, tanto pela desnitrificação (redução, realizada por microrganismos, para formas gasosas - N₂ e N₂O)

como pela volatilização (perdas gasosas na forma de NH_3). Devido à baixa eficiência de utilização dos fertilizantes nitrogenados minerais pelas plantas, o nitrogênio é aplicado em quantidades elevadas, sendo, geralmente, o nutriente mineral mais caro do custo de produção (Coelho, 2007; Rocha et al., 2020).

Nesse contexto, a utilização de bactérias promotoras do crescimento vegetal (BPCV) vem se mostrando uma ótima alternativa para a cultura do milho, uma vez que tem sido observada a redução das perdas e do custo de produção com fertilizantes nitrogenados minerais (Rocha et al., 2020).

Bactérias promotoras de crescimento de plantas, como o *Azospirillum brasilense*, promovem o crescimento das raízes, aumentando a área de absorção de água e nutrientes minerais, além de aumentarem a tolerância a estresses abióticos como salinidade e seca. Embora a *Azospirillum brasilense* seja capaz de fixar nitrogênio atmosférico, associativamente com várias espécies não leguminosas, como o milho (Hungria et al., 2010), a principal contribuição conferida ao milho é a promoção do crescimento das plantas, atuando especialmente no sistema radicular, aumentando a absorção de nutrientes minerais, melhorando, conseqüentemente, o aproveitamento de fertilizantes nitrogenados minerais.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento vegetativo de milho verde cultivado com diferentes doses de N mineral e com inoculação com *Azospirillum brasilense*.

4.2.MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1.Caracterização da área experimental

Este trabalho foi realizado com a cultura do milho verde em cultivo protegido na área experimental do Instituto Federal Goiano - Campus Ceres, (Latitude 15°21'3" S; Longitude 49°35'55" O), na cidade de Ceres - GO. O clima do local, segundo o Sistema Internacional de Köppen, é do tipo Tropical (Aw) quente e semiúmido, apresentando regime pluvial bem definido, com período de chuvas entre outubro-março e estação seca de abril-setembro. O solo utilizado no experimento é do tipo Latossolo Vermelho distrófico, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Santos et al., 2018).

A casa de vegetação utilizada apresenta cobertura de polietileno de baixa densidade, transparente, em formato tipo arco, com 7 m de largura e 20 m de

comprimento. As paredes laterais e frontais são confeccionadas com telas antiafídeos fixas. O solo é de chão batido, mas os vasos foram dispostos em cima de bloquetes de concreto distanciados a 0,70 m entre linhas (Figura 1).



Figura 1. Área Experimental. Ceres-GO.

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2023.

4.2.2. Material biológico

A cultivar de milho utilizada neste trabalho foi o AG 1051, a qual apresenta características de híbrido diferenciado, ciclo semiprecoce (140 dias), empalhamento excelente e milho verde para pamonha. O inoculante comercial usado foi o Biomax® Azum (*Azospirillum brasilense* AbV5), testado pela alta utilização desse inoculante em campo por produtores rurais. Foi usado como veio da fábrica, ou seja, retirou-se o líquido de dentro da BEG, para a realização da inoculação das sementes. As sementes eram tratadas com Fludioxonil 2,5% (Fungicida) + Metafaxil-M 2,0% (Fungicida) + Tiabendazol 15% (Inseticida) + Deltametrina 2,5% (Inseticida) + Pirimifós – Metílico 50% (Inseticida) + Polioxietileno Alquil Fenol Éter 20% (Espalhante adesivo).

4.2.3. Manejo da Irrigação

Para o manejo de irrigação, utilizou-se o sistema por gotejamento, com gotejadores do tipo botão, de vazão de 2 L h^{-1} e fluxo autocompensante. As linhas de derivação e laterais foram constituídas por tubos de 16 mm de diâmetro, fabricados em polietileno de baixa densidade (PEBD). As linhas laterais foram conectadas aos gotejadores por microtubos de 4 mm.

Todos os vasos (20 L), com substrato (solo de barranco) utilizados para o cultivo, foram elevados para a unidade de capacidade de vaso (CCV). Os solos acomodados nos vasos foram colocados para saturar em uma caixa-d'água com volume de água equivalente a 2/3 da altura dos vasos. Dessa forma, os vasos foram mantidos por um período de 24 h, para que ocorresse a saturação completa. Em seguida, foram cobertos com filme plástico, para evitar a evaporação e colocados para drenar livremente, sendo medidas as massas nos tempos zero e após 12, 24, 36, 48 e 60 h, conforme metodologia descrita por Casaroli & Lier (2008).

Foi medida a evaporação em um minitanque evaporimétrico com dimensões de 60 cm x 28 cm, instalado no interior da casa de vegetação para a estimativa da evapotranspiração da cultura - ETc (mm dia⁻¹), estimada segundo a metodologia de Pavani et al. (2009) pela Equação 1:

$$ETC = ECA \times Kp \times Kc \quad [1]$$

Em que:

ETc – Evapotranspiração da cultura (mm dia⁻¹);

ECA – Evaporação medida no Tanque (mm dia⁻¹);

Kp – Coeficiente do Tanque Classe, ambiente protegido este é igual a 1;

Kc – Coeficiente da cultura.

Os dados de Kc da cultura do milho foram baseados nas recomendações de Allen et al. (1998), adaptada por Albuquerque e Andrade (2001). O Kc correspondeu na fase 1 a 1,0 desde emergência até V2 (planta com 2 folhas bem desenvolvidas); na fase 2 (vegetativo com 3 flores bem desenvolvidas até o pendoamento) e fase 3, 1,2 para clima mais seco, (VT – pendoamento até R1 – embonecamento). Finalizou-se o experimento nas fases 4 (R2 – grão bolha d'água até R3 – grão leitoso) e 5 (R4 – grão pastoso até R6 maturidade fisiológico).

A diferenciação dos volumes de água aplicados foi dada pelo tempo de aplicação, pela Equação 2:

$$Ti = [(EToxAvxKc)/Ea]x(Rx60)]/Q \quad [2]$$

Em que:

Ti - Tempo de irrigação (min);

ET_o - Evapotranspiração de referência (mm dia⁻¹);

Av - Área do vaso (m²);

Kc - Coeficiente da cultura;

Ea - Eficiência de aplicação em decimal (80%);

Re - Taxa de reposição em decimal;

60 - Transformação do tempo de horas para minutos;

Q - Vazão do gotejador (L h⁻¹).

4.2.4. Inoculação de sementes e semeadura

O inoculante foi utilizado no tratamento de sementes, sendo 100 mL ha⁻¹ (dose recomendada pelo fabricante), para 25 kg de semente. A inoculação foi realizada no Laboratório de Interações Microbianas e Biotecnologia (LIMBio), do Instituto Federal Goiano - Campus Ceres.

Para isso, as sementes foram microbiolizadas com o inoculante em sacos plásticos por 15 minutos. Em seguida, foram dispostas em bandejas e secas à temperatura ambiente e semeadas cinco sementes por vaso, deixando duas plantas por vaso após desbaste, cinco dias após a emergência (DAE).

4.2.5. Adubação do solo

Para análises físico-química do solo, foram utilizadas amostras provenientes de cinco subamostras, formando uma amostra composta, que foram enviadas para o Laboratório de Solos do Instituto Federal Goiano - Campus Ceres. Os resultados da análise são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Análise química e textura do solo usado no experimento. Ceres - GO, 2023

Em	g	Cmol _c dm ³							mg	%
H ₂ O	dm ³								dm ³	
pH	MO	Ca	Mg	Al	H+Al	K	T	K	P	V
6,4	0,6	1,7	1,1	0,0	2,2	0,5	5,4	194,1	1,5	59,61
Textura (g Kg ⁻¹)										
Areia			Silte				Argila			
216			245				539			

pH: potencial hidrogeniônico; MO: matéria orgânica; Ca: cálcio; Mg: magnésio Al: alumínio; K: potássio; T: soma de bases; P: fósforo; V: saturação por bases.

De acordo com a análise de solo, foi realizada a adubação de semeadura com 27 g vaso⁻¹ de superfosfato simples, composto por 18% de fósforo, 16% de cálcio e 8% de enxofre. Em seguida, realizou-se a adubação com ureia, baseado nos tratamentos descritos a seguir.

4.2.6. Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC) com 20 tratamentos e 4 repetições, dispostos em um esquema fatorial de 2 x 2 x 5, sendo: inoculação, utilizando o inoculante comercial Biomax® Azum (AbV5) (*Azospirillum brasilense*), aplicado no tratamento de sementes e o controle sem inoculação; 2 condições de água (irrigado e supressão hídrica) e 5 doses de N: 0, 40, 80, 120, 160 kg ha⁻¹ da dose de N recomendada para a cultura do milho (160 kg ha⁻¹), totalizando 80 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi composta por vasos de polietileno com capacidade de 20 litros.

Metade dos tratamentos foi submetido à supressão hídrica ao atingir o estágio V6 (vegetativa com 6 folhas bem definidas) por 10 dias, a outra metade seguiu com a irrigação normal por todo ciclo da cultura.

A pesquisa foi constituída dos seguintes tratamentos:

Sem e com supressão hídrica

T1 - 0 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), com inoculação (controle); T2 - 40 kg ha⁻¹ de N, com inoculação; T3 - 80 kg ha⁻¹ de N, com inoculação; T4 - 120 kg ha⁻¹ de N, com inoculação; T5 - 160 kg ha⁻¹ com inoculação; T6 - 0 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), sem inoculação (controle);

T7 - 40 kg ha⁻¹ de N, sem inoculação; T8 - 80 kg ha⁻¹ de N, sem inoculação; T9 - 120 kg ha⁻¹ de N, sem inoculação; T10 - 160 kg ha⁻¹ sem inoculação.

O adubo nitrogenado utilizado foi a ureia (45% N), realizada em duas aplicações. No momento da semeadura, foram aplicados 40 kg ha⁻¹ nos tratamentos T2 e T7 e 80 kg ha⁻¹ nos outros, com exceção dos tratamentos controle (T1 e T6).

Nos estádios V3 (vegetativa com 3 folhas bem definidas) e V4 (vegetativa com 4 folhas bem definidas) (20 DAE) da cultura do milho foram aplicados 40 kg ha⁻¹ de N em cobertura nos tratamentos que apresentavam dose de 120 kg ha⁻¹ de N (T4 e T9), enquanto que, para os tratamentos T5 e T10, foram aplicados 80 kg ha⁻¹ de N, completando a dose máxima dos tratamentos.

4.2.7. Avaliações biométricas e fisiológicas

As características das plantas (altura, número de folhas e diâmetro de colmo) foram avaliadas aos 20, 30, 60 e 90 dias após emergência (DAE). Foi realizada também a avaliação de biomassa total da parte aérea e da raiz, além de matéria seca da parte aérea aos 90 DAE.

Para a análise de altura (cm) foi utilizada uma régua, medindo-se a partir da base da planta até a ponta da folha mais jovem (Figura 2A.); para diâmetro de colmo (cm), utilizou-se um paquímetro digital (Figura 2B), em que foram realizadas medições na base da planta. A contagem do número de folhas foi feita considerando folhas vivas (somente folhas capazes de realizar fotossíntese) e folhas totais (considerou-se folhas verdes e secas).

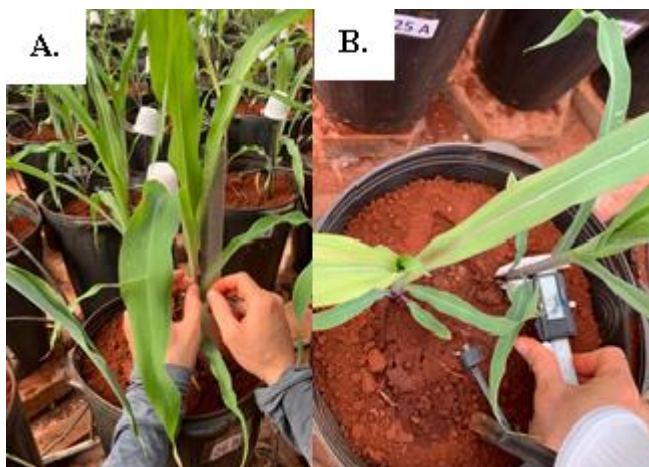


Figura 2. Medição de altura de planta (A), determinação de diâmetro de caule aos 30 DAE (B).
Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

Aos 40 DAE, antes da supressão hídrica e, aos 60 DAE (estágio VT - Pendoamento), após a supressão, foram realizadas as avaliações do índice de clorofila (Figura 3A), além da temperatura das folhas (Figura 3B), mensurado com o auxílio de um clorofilômetro portátil (Clorofilog Falker, CFL 2060) e uma câmera térmica de bolso “Flir Cx – Series” (19.200 pixels), respectivamente. As determinações foram feitas no terço central das folhas diagnósticas para avaliação do estado nutricional (Raij e Cantarella, 1997), ou seja, quarta folha de cima para baixo de cada planta dos tratamentos, sendo um total de 10 leituras por planta. Para temperatura, fez-se somente uma leitura por planta.



Figura 3. Avaliações do índice de clorofila usando clorofilômetro portátil (Clorofilog Falker, CFL 2060) (A) e temperatura das folhas utilizando uma câmera térmica de bolso (19.200 pixels) (B).

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

Avaliou-se, também, o volume de raízes, colocando-as já lavada e sem resto de solo dentro de uma proveta de 1 L, completando com água até a capacidade máxima. Depois retirou a raiz desse recipiente, em que se realizou a medição da coluna de água na proveta graduada sem a raiz. Pela diferença, obteve-se o volume de raízes existentes em todos os tratamentos em (cm³), segundo a metodologia descrita por Basso (1999).

Para as avaliações de biomassa total da parte aérea (g) e raiz (g), foram coletadas as plantas dos vasos e realizada a separação da raiz. A parte aérea foi pesada e levada para estufa. O procedimento foi repetido para avaliação da biomassa das raízes. Para análise de matéria seca (%), foram realizadas pesagens da parte aérea das plantas verdes e, posteriormente, levadas para estufa de circulação de ar forçada a 65°C por 72 horas. Após a obtenção de peso constante, calculou-se a proporção de matéria seca do material.

4.2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de regressão quadrática, ao nível de 5% de probabilidade, e ANOVA. Também foi feita a plotagem dos resíduos padronizados contra a ordem de coleta para verificar a independência dos erros e teste de Cochran para verificar se a variância foi constante, utilizando o software SAS OnDemand (2024).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando se testou diferentes doses de nitrogênio com a inoculação de *Azospirillum brasilense* para as variáveis agronômicas, altura de planta, diâmetro de colmo e número de folhas de plantas de milho verde aos 20 DAE não houve resultados significativos. Quando se observou as doses de nitrogênio isoladamente, obteve-se resultados significativos para altura de planta (Figura 4), diâmetro de colmo (Figura 5) e número de folhas (Figura 6) 20 DAE.

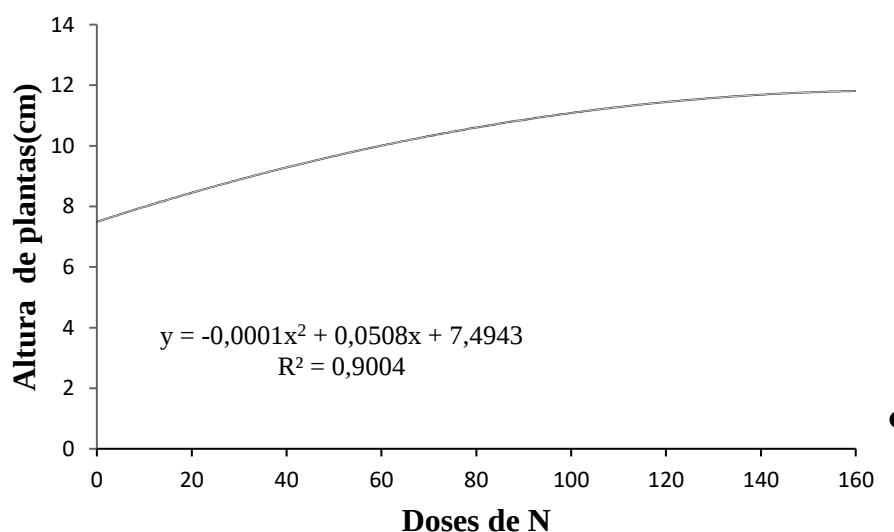


Figura 4. Altura de plantas de milho verde aos 20 DAE, submetidas a diferentes doses de Nitrogênio
Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

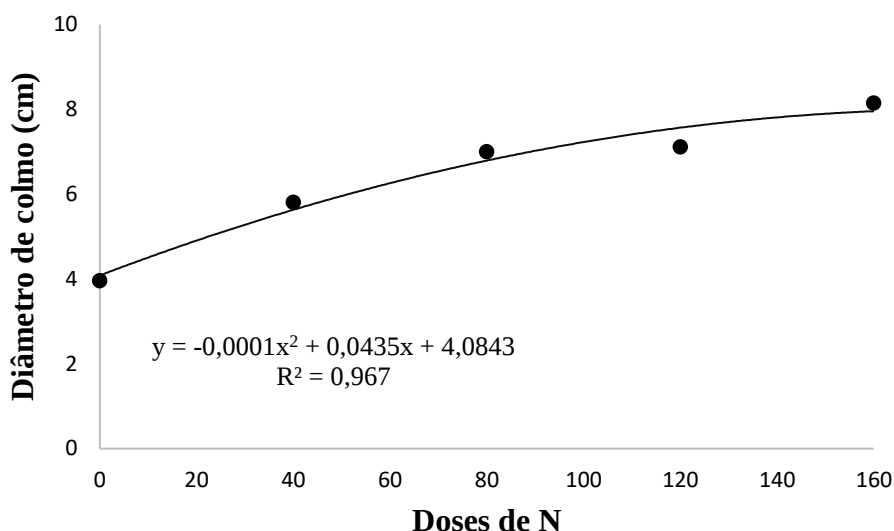


Figura 5. Diâmetro de colmo de plantas de milho verde aos 20 DAE, submetidas a diferentes doses de Nitrogênio

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

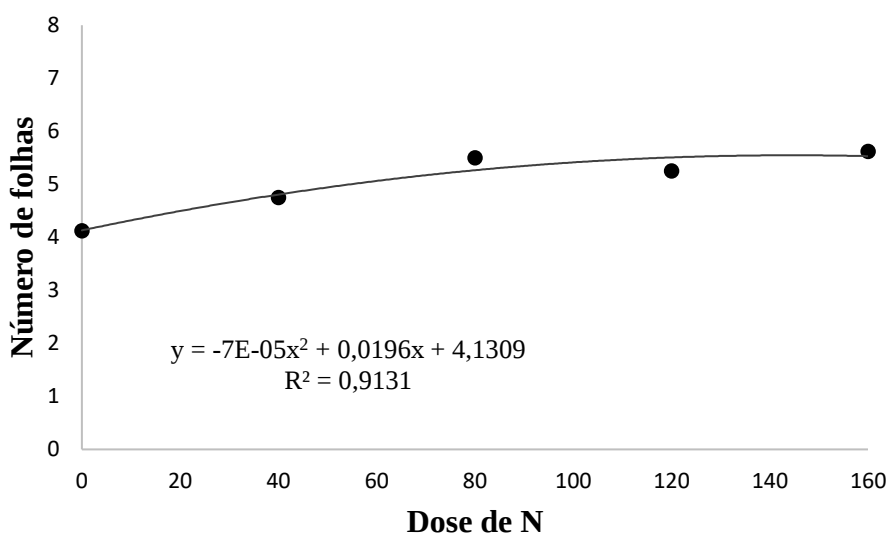


Figura 6. Número de folhas de milho verde aos 20 DAE, submetidas a diferentes doses de Nitrogênio

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

Nas avaliações aos 20 DAE, observou-se maior altura de plantas nos tratamentos com dose de 160 kg ha⁻¹ de nitrogênio, como visto na Figura 4, diferentemente dos resultados obtidos por Pinheiro et al. (2020), que testando doses de nitrogênio em milho, observaram que o crescimento de plantas foi induzido até 98,66 kg ha⁻¹. Já as doses maiores afetaram negativamente o desenvolvimento em altura da cultura.

As doses crescentes de N proporcionaram maior diâmetro de colmo para as plantas, apresentando maiores resultados com 160 kg ha⁻¹ (Figura 5). Segundo Cadore

et al. (2016), avaliar o diâmetro do colmo é importante, pois, além de suportar as folhas e partes florais, é considerado órgão de reserva da planta de milho. Duart et al. (2021) encontraram efeito significativo para doses de nitrogênio, com ponto máximo de 0,86 cm de diâmetro de colmo na dose de 191,7 kg ha⁻¹.

Para o número de folhas, a média obtida foi de aproximadamente 6 folhas quando se aplicou a dose máxima de N e de 4 folhas quando não se aplicou N (Figura 6). Sendo o número de folhas importante, pois quanto maior a área fotossintética da planta, maior será a produção de fotoassimilados por meio da fotossíntese.

Aos 30 DAE, houve resultados significativos para doses de nitrogênio, sendo que a dose de 160 kg⁻¹ ha foi a que se mostrou com a maior média de altura de planta ~27,66 cm (Figura 7C). A altura de plantas é um parâmetro agrônômico de grande importância, tendo relação direta com a inserção da espiga, índice de acamamento e perdas durante a colheita, influenciando no momento de caracterização de híbridos (Ferraz et al., 2022).

A aplicação de doses de nitrogênio, independente da inoculação com *Azospirillum*, promoveu resultados significativos ($p < 5\%$) para número de folhas totais (NFT) (Figura 7A), número de folhas vivas (NFV) (Figura 7B) e diâmetro de colmo (DC) (Figura 7D). Para NFT, as médias foram de 7,75 folhas na dose de 160 kg ha⁻¹ de N, obtidas da contagem de todas as folhas da planta, inclusive as folhas que entraram em senescência. Já para NFV, foram observadas médias de 6,25 folhas vivas na dose de 160 kg ha⁻¹ de N e 4,25 folhas na dose 0 kg ha⁻¹, ou seja, sem aplicação de nitrogênio. O DC mostrou médias de 12,01 cm na dose de 160 kg ha⁻¹ de N e 5,96 cm na dose 0 kg ha⁻¹ de N. Rocha, Coltro e Lizzoni (2020) também notaram que a inoculação com *Azospirillum brasilense* não influenciou nas variáveis biométricas de plantas de milho. O número de folhas vivas interfere diretamente no potencial fotossintético da planta, uma vez que parte dos carboidratos acumulados nos grãos de milho são provenientes das folhas localizadas no colmo, tendo uma relação importante com o rendimento da cultura, que dependerá da conversão da radiação em fitomassa e da eficiência da partição de fotoassimilados.

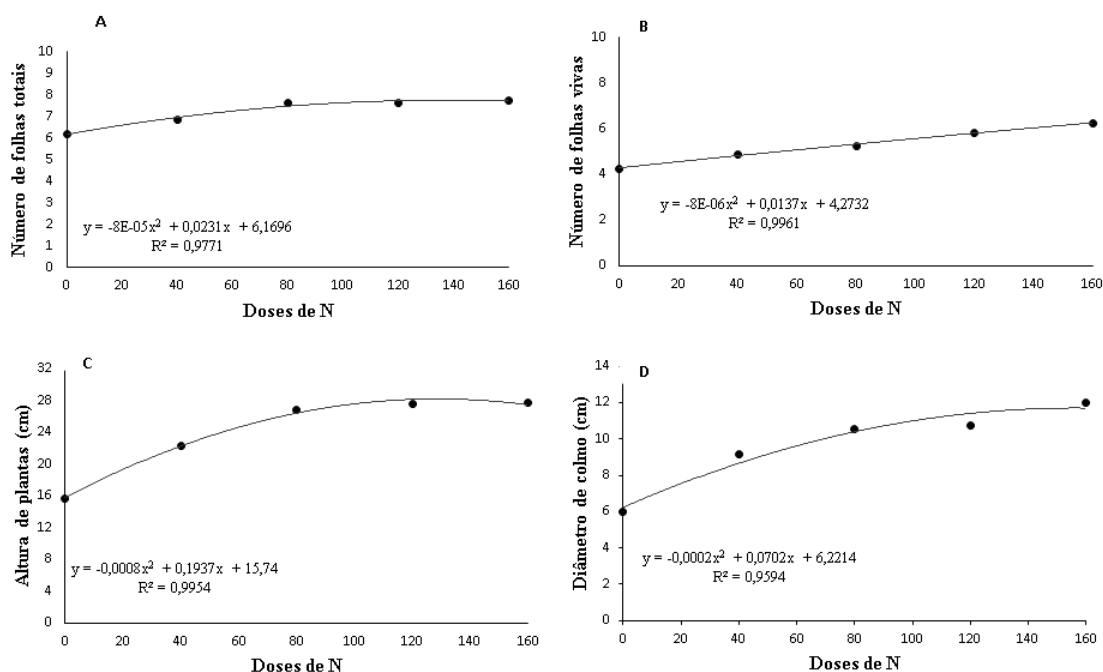


Figura 7. Número de folhas totais (A), número de folhas vivas (B), altura de plantas (C) e diâmetro de colmo (D) de plantas de milho verde aos 30 DAE, submetidas a diferentes doses de N

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

Houve diferença significativa para o índice de clorofila total aos 40 DAE. Conforme as doses de N foram aumentadas, também se observou o aumento no índice de clorofila total das folhas das plantas. Notou-se que na dose de 160 kg ha⁻¹ de N, o índice de clorofila foi 56,2; no tratamento sem nitrogênio, o índice foi de 31,8 (Figura 8). Esses resultados corroboram aos de Cadore et al. (2016) na constatação que o incremento das doses de nitrogênio aumentou o teor de clorofila total no milho. De acordo com Barbero et al. (2021), isso ocorre devido ao fato de o nitrogênio ser constituinte da molécula de clorofila. A clorofila é o pigmento responsável pela captação da luz solar, diretamente ligada à fotossíntese das plantas. Para cultura do milho, é de extrema importância que a clorofila esteja em índices altos para garantir a produtividade. Sendo o nitrogênio constituinte da molécula de clorofila, quanto maior a quantidade desse elemento na planta, maior será a translocação de açúcares durante a fotossíntese, influenciando no diâmetro, altura e produção da cultura do milho.

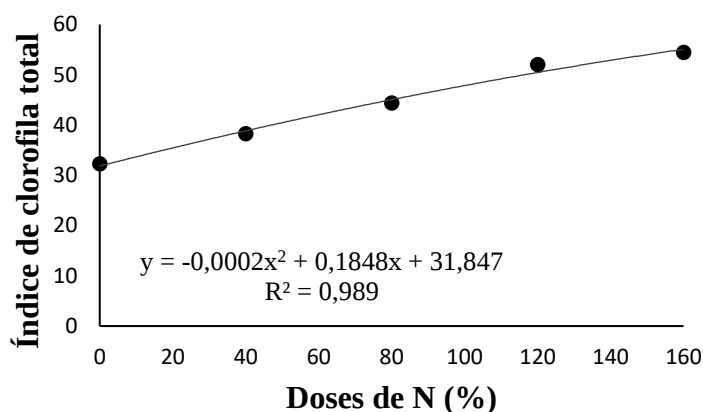


Figura 8. Índice de clorofila de plantas de milho verde aos 40 DAE, submetidas a diferentes doses de nitrogênio
Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

Duarte e Ruff (2021) constataram que a inoculação das sementes de milho com inoculante comercial contendo *Azospirillum brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6) não afetou as variáveis biométricas, produtivas e o índice de clorofila aos 40 dias após a semeadura. Também não foi observada interação significativa ao nível de 5% de probabilidade entre as doses do inoculante e a presença ou ausência de inoculação.

Após realizar a supressão hídrica nos tratamentos, foram feitas análises de fatorial triplo. No entanto, não foi observada a interação em nenhum dos fatores (nitrogênio x inoculação, nitrogênio x irrigação, inoculação x irrigação e nitrogênio x inoculação x irrigação). Sendo assim, procedeu-se às análises separadamente.

Para a análise do fator nitrogênio, usou-se a regressão linear, quadrática e cúbica, sendo que a regressão quadrática e cúbica foram as que obtiveram resultados mais altos de R^2 . Como a diferença entre a regressão quadrática e cúbica eram mínimas, escolheu-se a regressão quadrática por proporcionar menor parametrização do modelo. Apenas temperatura de folha não foi significativa. Sendo assim, não foi possível escrever uma equação de regressão para essa variável.

Verificou-se que o maior diâmetro de colmo e o maior número de folhas vivas foram obtidos na dose de 160 kg ha⁻¹, ou seja, maior dose de N (Figura 9A e 9B). Kruger et al. (2023) tiveram maior altura de planta e diâmetro de colmo na dose de 150 kg ha⁻¹. Kappes et al. (2011) citam que o aumento do diâmetro do colmo com a aplicação de nitrogênio mostra-se vantajoso, pois essa característica morfológica é uma das que mais tem sido relacionada com o percentual de acamamento e quebramento de planta na cultura do milho.

Desse modo, Oliveira e Picazevicz (2021) citam que as plantas de milho que possuem o colmo com maior diâmetro são mais resistentes ao acamamento ou quebramento, sendo vantajoso para obter maiores produtividades, porque quanto maior o diâmetro, maior a capacidade da planta em armazenar fotoassimilados.

A altura da planta aos 90 DAE foi maior na dose de 120 kg ha⁻¹ de N, ponto máximo alcançado, já que na dose de 160 kg há⁻¹ de N houve menor altura de planta (Figura 9D). O mesmo efeito ocorreu para variável número de folhas totais, com redução na dose de 160 kg N ha⁻¹ (Figura 9C).

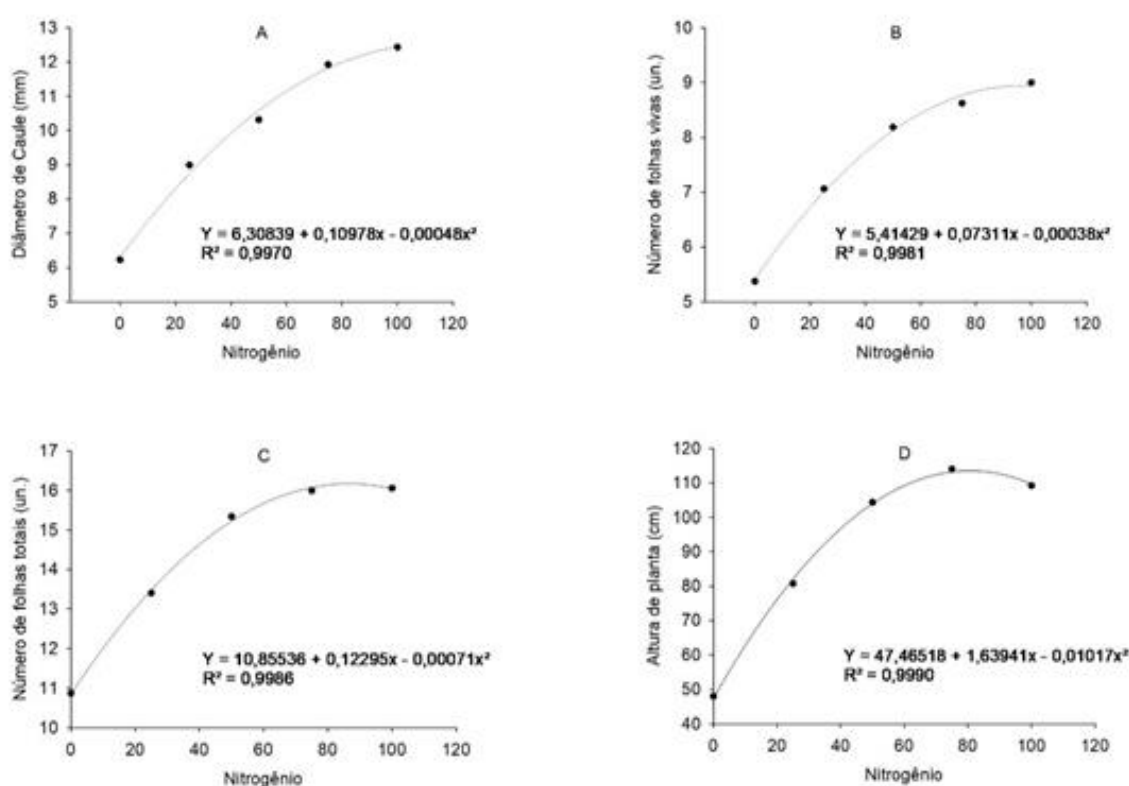


Figura 9. Efeito quadrático de doses de nitrogênio para Diâmetro de caule (mm) (A), Número de folhas vivas (B), Número de folhas totais (un.) (C) e Altura de planta (cm) (D) com a presença ou não de *Azospirillum brasilense* em solos sob irrigação e não irrigado

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

A dose de nitrogênio de 120 kg ha⁻¹, apresentou resultados superiores para as variáveis de massa fresca da raiz (Figura 10B), massa seca da raiz (Figura 10C) e volume de raiz (Figura 10D), apresentando o ponto máximo para essas variáveis. De acordo com Lemos et al. (2020), a aplicação do nitrogênio no milho está ligada ao seu potencial produtivo, porém, o aumento das doses para elevar os ganhos não é uma alternativa

sustentável.

A delimitação das raízes dentro de vasos pode restringir o aumento de MFR, VR e MSR. Isso pode ter influenciado os resultados encontrados quando as plantas alcançaram o estágio de pendramento, causando delimitação de espaço para as raízes das plantas submetidas aos tratamentos com dose de 160 kg ha⁻¹ de N.

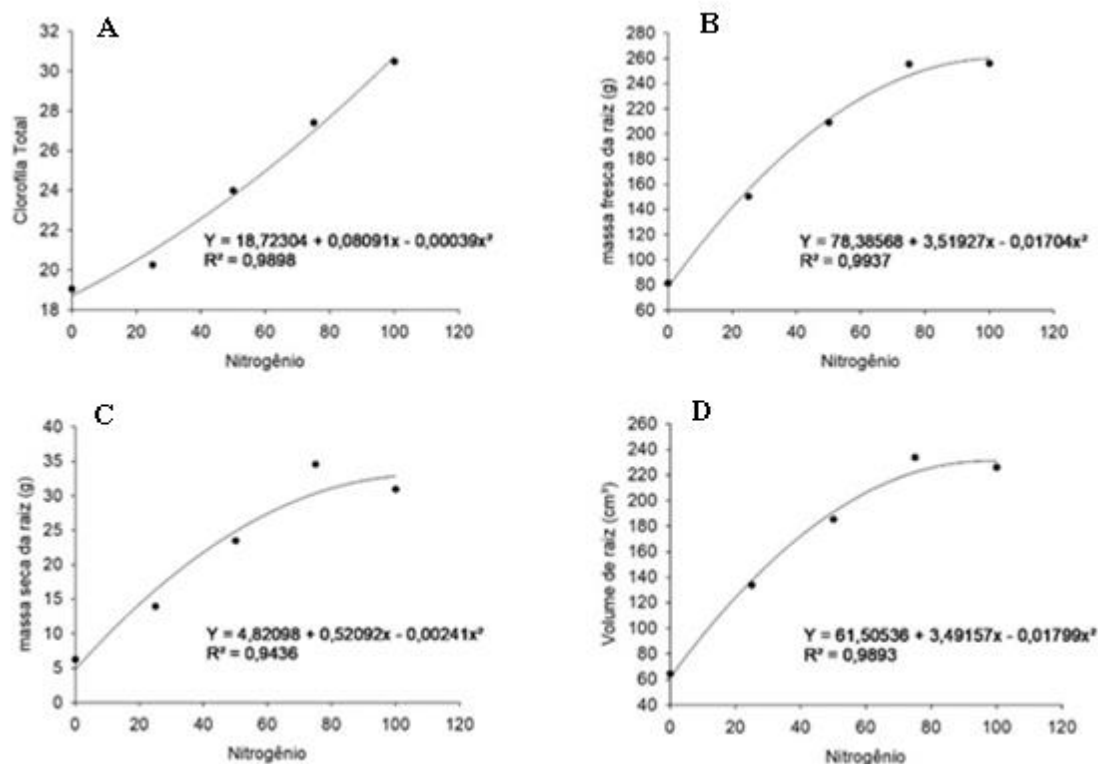


Figura 10. Efeito quadrático de doses nitrogênio para Clorofila total (A), Massa fresca da raiz (B), Massa seca da raiz (C) e Volume de raiz (D) com a presença ou não de *Azospirillum brasilense* em solos sob irrigação e não irrigado

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

Sendo assim, pode-se inferir que não é necessário o uso da dose máxima de nitrogênio para alcançar maior massa e volume de raízes, uma vez que, os resultados deste trabalho apresentaram que a aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N proporcionou maiores resultados.

Para a variável clorofila total (Figura 10A), observou-se que a dose de 160 kg ha⁻¹ apresentou maiores resultados de clorofila, sendo que os tratamentos sem adubação com N, foram menores. Concordando com Durães et al. (2005); Barbero et al. (2021), o conteúdo de clorofila demonstra-se um importante parâmetro na avaliação do estado nutricional das plantas, podendo ser utilizado para o monitoramento do nitrogênio para a cultura.

Morais (2012), Muller (2013) e Pinto Júnior et al. (2012), avaliando a resposta de plantas de milho à inoculação de *A. brasilense*, associada à adubação nitrogenada, não obtiveram diferença significativa no teor de clorofila.

Lopes et al. (2012) verificaram que quanto maior o teor de N na folha do milho, maior a síntese de clorofila, sendo variável em decorrência de híbridos e dos ambientes de produção, aos quais essas plantas estão sendo semeadas. Barbero et al. (2021) relatam que o uso indiscriminado do adubo N sem uma colheita eficiente dessa massa de forragem, seja pelo animal ou pelo homem, pode trazer prejuízos como alongamento do colmo e aceleração da taxa de senescência, além da acidificação do solo.

Comparando os tratamentos separadamente, observou-se que o número de folhas vivas, ou seja, folhas que estavam produzindo fotoassimilados e número de folhas totais, não tiveram diferença nos resultados, quando se comparou inoculação com *Azospirillum* ou sem inoculação. Diante da supressão hídrica, o número de folhas vivas e de folhas totais, apresentaram-se maiores sem a supressão, isto é, com fornecimento de água no decorrer do experimento.

A altura de plantas e o diâmetro de colmo também não apresentaram diferenças significativas, comparando os tratamentos com inoculação de *Azospirillum* e sem inoculação. Diferente de quando foram comparados os resultados de altura de planta com os tratamentos sob irrigação, que foram maiores com irrigação no decorrer do experimento. Entretanto, quando se trata de diâmetro de colmo, não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Marcolini et al. (2021) afirmam que a inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* pode ser uma alternativa viável na redução do uso de fertilizantes nitrogenados. No trabalho de Oliveira et al. (2021), embora a fixação de N na inoculação com *A. brasilense* não tenha demonstrado resultados significativos na produtividade de grãos, observaram uma uniformidade e até mesmo um incremento, na variável altura de plantas.

Os resultados de massa fresca da raiz, clorofila total, temperatura de folhas e massa seca da raiz não tiveram diferença significativa pelo teste F da Anova, nos tratamentos com inoculação de *Azospirillum* e sem inoculação. Esses resultados são semelhantes ao trabalho de Kruger et al. (2023), em que a inoculação com *Azospirillum brasilense* não resultou efeitos significativos para altura de planta, diâmetro de colmo, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total.

Para os resultados de massa fresca da raiz e massa seca da raiz (Figura 11B e

11A), houve diferença significativa, quando comparado isoladamente a irrigação, sendo observados maiores valores nos tratamentos com supressão hídrica.

A temperatura das folhas e clorofila total não apresentaram diferença significativa pelo teste F, quando comparados aos valores dos tratamentos com inoculação e sem inoculação. No entanto, quando comparada clorofila total (Figura 11D) isoladamente pelo tratamento de irrigação, os valores diferem entre si, pois mostraram-se superiores para os tratamentos com irrigação durante o decorrer de todo experimento.

As bactérias do gênero *Azospirillum* promovem alterações fisiológicas na planta, com destaque para o aumento no teor de clorofila nas folhas, que resultam em melhoria dos parâmetros fotossintéticos das plantas (MORENO et al., 2019). Com o fornecimento de água para planta durante todo o ciclo, a produção de fotoassimilados e respiração ocorre normalmente, assim como a assimilação de CO₂, não havendo alterações na condutância estomática, o que pode ter ocorrido nas plantas que foram submetidas à supressão hídrica.

O volume de raiz não se mostrou significativo quando comparado com inoculação e sem inoculação, pelo teste F. Resultados diferentes foram observados por Hungria & Nogueira (2022) que constatarem incrementos significativos na massa, volume, comprimento total e das raízes, no diâmetro de raízes, no comprimento dos pelos radiculares e no número de bifurcações radiculares por planta inoculadas com *Azospirillum*, evidenciando a promoção do acesso aos nutrientes no solo e a eficiência de absorção de nutrientes e água.

As plantas apresentaram maiores resultados de volume de raiz para os tratamentos com supressão hídrica, independente da inoculação (Figura 11C). Jales et al. (2021) tiveram resultados semelhantes, em que a restrição hídrica promoveu aumento do comprimento e área superficial de raiz em relação ao tratamento CC (capacidade de campo). Ao serem submetidas à supressão hídrica, pode ter ocorrido o direcionamento de fotoassimilados para as raízes ou o crescimento delas em busca de nutrientes e umidade.

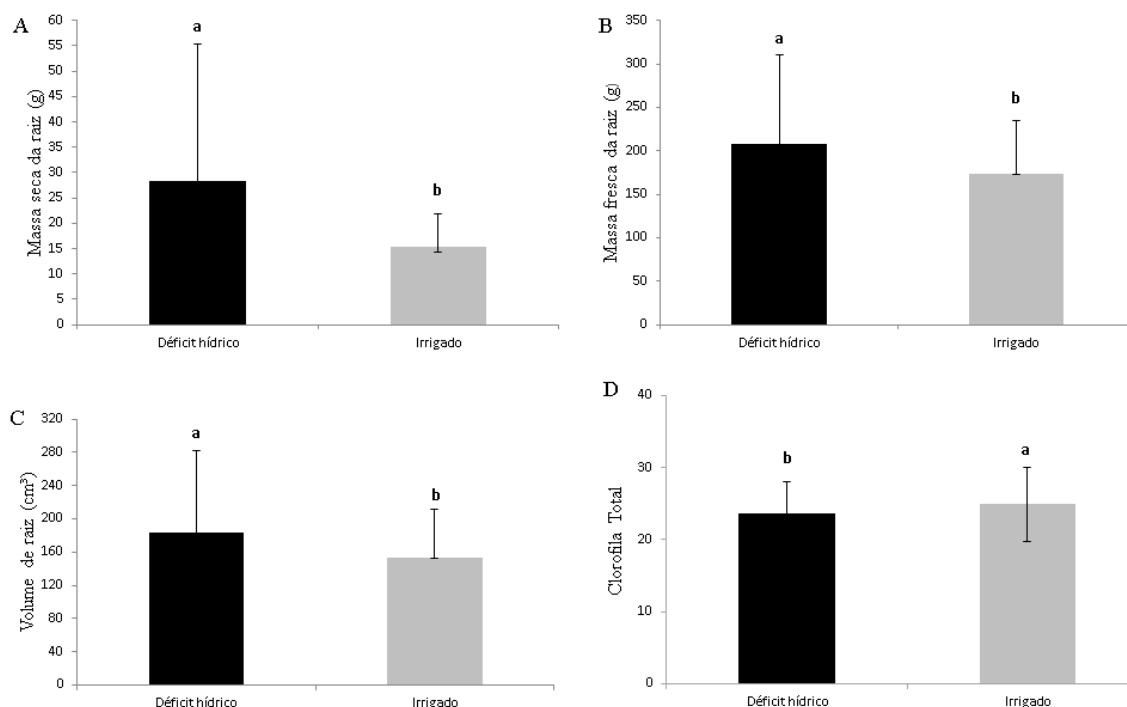


Figura 11. Resultados observados para Massa seca da raiz (A), e Massa fresca da raiz (B), Volume de raiz (C), Clorofila total (D) em solo irrigado e sem irrigação. Médias seguidas de mesma letra minúscula, não diferem entre si pelo teste F da Anova

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

4.4. CONCLUSÃO

Nas condições deste estudo, não se tem interação significativa entre *Azospirillum brasilense* e doses de nitrogênio em plantas de milho.

A aplicação de 160 kg ha⁻¹ de N proporcionou maiores resultados para altura de planta, diâmetro de colmo, número total de folhas vivas e índice de clorofila total aos 20 DAE.

A aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N possibilita maior resultado para altura da planta, massa seca da raiz, volume de raiz e massa fresca de raiz aos 90 DAE.

O número de folhas vivas, número de folhas totais, altura de plantas, clorofila total e temperatura de folhas foi maior nos tratamentos sem supressão hídrica, incluindo também o volume de raízes, evidenciando estratégia da cultura do milho para superar o déficit hídrico.

4.5. Referências Bibliográficas

- BARBERO, R. P.; RIBEIRO, A. C. C.; MOURA, A. M.; LONGHINI, V. Z.; MATTOS, T. F. A.; BARBERO, M. M. D. Potencial de produção de bovinos de corte em pastagens tropicais: revisão de literatura. **Ciência Animal Brasileira**; v.22, 2021. DOI: 10.1590/1809-6891v22e-69609
- BASSO, S. M. S. **Caracterização morfológica e fixação biológica de nitrogênio de espécies de *Adesmia* DC. E *Lotus* L.** 1999. 268 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.
- CADORE R.; COSTA NETTO, A.P., REIS, E.F.; RAGAGNIN, V.A.; FREITAS, D.S.; LIMA, T.P.; ROSSATO, M.; D'ABADIA, A.C.A. Híbridos de milho inoculados com *Azospirillum brasilense* sob diferentes doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.15, n.3, p. 399-410, 2016. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v15n3p398-409>
- CASAROLI, D; LIER, Q. de J. V. Critérios para determinação da capacidade de vaso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Piracicaba, v. 32, n.1, p.59-66, 2008.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2013**, Brasília, v.1, n. 1, 2023-24. Disponível em: file:///C:/Users/Usuario/Downloads/E-book_BoletimZdeZSafrasZ12Zlevantamento.pdf Acesso em: 05 set.2023.
- DUARTE, J. P.; RUFF, O. J.; SANTOS, C. L. R. Inoculação de milho com inoculante à base de *Azospirillum brasilense* sob doses de nitrogênio em solo arenoso. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, v.8, 2021. DOI:10.36560/14820211391
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHÃES, P. C.; GAMA, E. E. G.; OLIVEIRA, A. C. Caracterização fenotípica de linhagens de milho quanto ao rendimento e à eficiência fotossintética. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 355-361, 2005.
- FERRAZ, M. A. J.; FERRAZ, G. A. J.; SANTOS, N. R. C. Determinação de altura de plantas de milho através da análise de imagens aéreas obtidas com ARP. **Brazilian Journal of Development**, v.8, n.1, p.6900-6917, jan.2022.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O.; Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil; **Plant Soil**; 331:413–425; 2010.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Fixação biológica do nitrogênio. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (ed.). **Bioinsumos na cultura da soja**. Brasília, DF: Embrapa, 2022. cap. 8, p. 143-162.
- JALES, H.F.; MAGALHÃES, P.C.; RONCHI, C.P.; PAIVA, A.P.L.; CARVALHO, L.P.; GOMES JÚNIOR, C.C.; **Morfofisiologia do Milho Inoculado com *Azospirillum brasilense* Submetido à Restrição Hídrica e à Adubação Nitrogenada**; Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2021.

- KAPPES, C.; ANDRADE, J. A. C.; ARF, O.; OLIVEIRA, A. C.; ARF, M. V.; FERREIRA, J. P. **Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas**. Bragantia, Campinas, v. 70, n. 2, p. 334-343, 2011.
- KRUGER, H.G.; SÁ, J.M.; COSTA, R.Q.; Efeito da Inoculação de *Azospirillum brasiliense* associado a doses de adubação nitrogenada na cultura do milho; **Revista Sociedade e Ambiente**; v 4; n.3; 2023.
- LEMOS, E. F.; RODRIGUEZ, A.P.R.M.; ALVES, T.L.; Doses e modo de aplicação de inoculante com *Azospirillum brasiliense* na cultura do milho; **Revista Ciência et Praxis**, v. 13, n. 26, jun/dez, p. 83-94; 2020.
- LOPES, E. C. P.; MORAES, A.; SANDINI, I. E.; KAMINSKI, T. H.; BASI, S.; PACENTCHUK, F. **Relação da leitura do clorofilômetro com teores de nitrogênio na folha de milho em sistema de integração lavoura-pecuária**. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 29., 2012. Anais...Águas de Lindoia: ABMS, 2012.
- MARCOLINI, B. P.; SANTOS, W. F.; DIAS, V. C.; AFFÉRI, F. S.; SOUZA, C. M.; PELÚZIO, J. M. Efeito do nitrogênio e *Azospirillum Brasilense* em teores de proteína do milho na entressafra. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, 15, n. 2, e8892, 2021. DOI: 10.17765/2176-9168.2022v15n2e8892
- MORAIS, T.P. **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum* em híbridos de milho**. 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.
- MORENO, A. L.; KUSDRA, J. F.; PICAZEVICZ, A. A. C. Crescimento do milho em resposta a *Azospirillum brasilense* e nitrogênio. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, Aracaju, v. 10, n. 5, p. 287-294, 2019. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2019.005.0025>
- MULLER, T. M. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* associada a níveis crescentes de adubação nitrogenada e o uso de bioestimulante vegetal na cultura do milho**. 2013. 98p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava-PR, 2013.
- OLIVEIRA, C. Á.; PICAZEVICZ, A. A. C. Análise econômica da produção de milho verde em resposta a adubos verdes, *Azospirillum brasilense* e nitrogênio. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.12, n.6, p.74-86, 2021. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.006.0006>
- PAVANI, L. C.; Lopes, A. da S; Pereira, G. T. Desenvolvimento da cultura do feijoeiro submetida a dois sistemas de manejo de irrigação e de cultivo. **Acta Scientiarum Agronomi**, v.31, n.3, p. 453-459. Maringá, 2009.
- PINHEIRO, C. H. N.; LIMA, V. M. M.; STIVAL, M. M.; SILVA, V. L.; ROCHA, K. R.; Utilização de *Azospirillum brasilense* e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Scientific Electronic Archives**, v. 13, n.8, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/13820201044>
- PINTO JUNIOR, A.S; GUIMARÃES, V.F.; RODRIGUES, L.F.O.S.; OFFEMAANN L.C.; COSTA, A.C.P.R.; SILVA, M.B.; DRANSKIL, J.A.L.D.; BANDEIRA, K.B.;

PEDROSA, F.O.; SOUZA, E.M. **Resposta a inoculação de estirpes de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho na região oeste do Paraná.** In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012. Águas de Lindóia. Anais... Águas de Lindóia, 2012.

PONTES, N.C.S.P.; **Cultivo de girassol com fertilizante nitrogenado de liberação controlada;** Universidade Federal Rural da Amazônia; Capitão Poço, PA; 2021.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H. 1997. Milho para grãos e silagem. In: RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** Campinas, Instituto Agrônomo, 1997, 285p. (Boletim Técnico, 100).

ROCHA, R.A.S.; COLTRO, G.L.; LIZZONI, G.C.; Adubação nitrogenada associada à inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho; **Revista Biodiversidade;** v.19, n.4, 2020.

SANTOS, W.F.; VAZ, P.C.P.; HAESBAERT, F.M.; FERREIRA, T.P.S.; SODRÉ, L.F.; SOARES, L.B.; PEREIRA, J.S. Análise de trilha em genótipos de milho no Sul do Tocantins. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária,** v.12, n.3, p.49–52, 2018.

SILVA, D.C. et al.; Avaliação da adubação nitrogenada associada à inoculação com bactérias *Azospirillum brasilense* na cultura do milho; **Brazilian Journal of Development;** v.7, n.10, p. 99862-99881; Curitiba, 2021.

5. CAPÍTULO III

TRATAMENTO QUÍMICO E BIOLÓGICO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO

RESUMO

Além do uso de fertilizantes nitrogenados, para garantir boas produções, tem sido usado inoculantes com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), para maximizar o crescimento das plantas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento químico de sementes e da inoculação de *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Priestia aryabhattai* na germinação de sementes de milho AG 1051 em laboratório e em canteiro com areia. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em um esquema fatorial 2 x 5, sendo: 2 tratamentos químicos de sementes (com e sem). Para o tratamento sem produto químico, as sementes foram lavadas com água até completa retirada do produto; 5 inoculantes: *B. subtilis*, *P. aryabhattai*, *B. amyloliquefaciens*, *A. brasilense* e controle, sem inoculação. Cada tratamento foi composto por 200 sementes para cada experimento (laboratório e canteiro com areia). Os dados foram tabulados e submetidos ao teste de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (5%) seguido de análise de variância (ANOVA). A inoculação de sementes de milho em laboratório com as bactérias *A. brasilense* e *P. aryabhattai*, juntamente com o tratamento controle proporcionaram maior comprimento de parte aérea e de raiz. As bactérias *B. subtilis* e *P. aryabhattai* associadas às sementes sem o tratamento químico proporcionaram maior massa seca de raízes. Para o teste de germinação em canteiro com areia, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou a melhor taxa de germinação, maior número de folhas, maior volume de raízes e maior altura de plântulas de milho, não diferindo estatisticamente do controle para todas essas variáveis e de *P. aryabhattai* para as variáveis altura de plântulas e número de folhas. A inoculação de *A. brasilense* em sementes tratadas com fungicidas e inseticidas proporcionou maior massa seca de raiz, sendo associado ao maior volume de raízes encontrado. Conclui-se que as bactérias *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. aryabhattai* promovem incrementos significativos para a germinação e crescimento inicial de plântulas de milho.

PALAVRAS-CHAVE: *Azospirillum*, *Bacillus*, bioinsumos, fungicidas, inoculação, sementes.

Chemical and biological treatment in the corn seed germination

ABSTRACT

Inoculants with bacteria promoting plant growth (BPG) have been used to maximize the plant growth in addition to using nitrogen fertilizers to ensure good yield. Therefore, this paper aimed to evaluate the effect of chemical seed treatment and inoculation of *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, and *Priestia aryabhattai* on the germination of AG 1051 corn seeds in the laboratory and in a seedbed with sand. The experimental design was completely randomized (CRD) in a 2x5 factorial scheme. Two chemical seed treatments were applied (with and without) for the treatment without chemicals and the seeds having been washed with water until the product is completely removed; five inoculants, *B. subtilis*, *P. aryabhattai*, *B. amyloliquefaciens*, *A. brasilense*, and control without inoculation were applied. Each treatment consisted of two hundred seeds for each experiment (laboratory and seedbed with sand). The data were tabulated and subjected to normality testing by the Shapiro-Wilk test (5%) and followed by analysis of variance (ANOVA). The corn seed inoculation in the laboratory with the *A. brasilense* and *P. aryabhattai* bacteria together with the control treatment provided greater length of aerial and root parts. The *B. subtilis* and *P. aryabhattai* bacteria associated with seeds without chemical treatment provided greater root dry mass. Inoculation with *A. brasilense* provided the best germination rate, highest number of leaves, highest root volume, and highest height of corn seedlings in the germination test in a seedbed with sand, not differing statistically from the control and with *P. aryabhattai* inoculation for the seedling height and number of leaves variables. The *A. brasilense* inoculation in seeds treated with fungicides and insecticides provided greater root dry mass, being associated with the greater root volume found. It is concluded that the *A. brasilense*, *B. subtilis*, and *P. aryabhattai* bacteria promote significant increases in germination and initial growth of corn seedlings.

KEYWORDS: *Azospirillum*. *Bacillus*. Bioinputs. Fungicides. Inoculation. Seeds.

5.1.INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) é o segundo grão mais produzido no Brasil, tornando esse país o terceiro maior produtor mundial, atrás apenas de Estados Unidos e China (Conab, 2024). No estado de Goiás, a cultivar AG 1051 é bastante utilizada para o consumo de milho verde e para o preparo de vários derivados do milho, principalmente a pamonha. O milho se destaca como um dos principais grãos de cereais cultivados em todo o mundo, presente na dieta básica de povos da América Latina, Ásia e África (Cardoso et al., 2021).

Além do uso de fertilizantes nitrogenados, para garantir boas produções, tem sido usado inoculantes com bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV), para maximizar o crescimento das plantas e reduzir custos (Hungria; Nogueira, 2022).

Para obter ganhos em produtividade na cultura do milho, um aliado à biotecnologia é o emprego de produtos biológicos (Barros, 2024). O *Azospirillum brasilense* é uma bactéria de comportamento endofítico facultativo, que pode colonizar tanto a rizosfera quanto regiões internas das plantas, promovendo, o crescimento vegetal, devido aos estímulos e à produção de hormônios como auxinas e giberelinas (Rampim, et al. 2020). Efeitos da inoculação com *Azospirillum* em parâmetros radiculares, incluindo comprimento de raízes, atribuídos à síntese de fitormônios como auxinas, citocininas e giberelinas, trazem benefícios à absorção de água e nutrientes (Hungria & Nogueira, 2022).

O *Bacillus subtilis* e *Bacillus amyloliquefaciens* promovem o crescimento vegetal pelos mecanismos diretos que aumentam a fixação de nitrogênio, tornam os nutrientes mais disponíveis, produzem fitormônios e aprimoram as propriedades do solo (Barros, 2024). A bactéria *Priestia aryabhattai* (inicialmente classificada como *Bacillus aryabhattai*) é considerada, por alguns autores, sinônimo heterotípico posterior de *Bacillus megaterium* (*Priestia megaterium*), uma vez que essas espécies compartilham características morfológicas semelhantes (Rocha, 2022). Essa bactéria é um excelente bioinoculante, uma vez que pode induzir resistência de espécies vegetais à estresses abióticos, como a seca (May et al., 2019).

No entanto, existem poucas informações a respeito dos efeitos decorrentes da compatibilidade do tratamento das sementes com pesticidas e da inoculação com bactérias promotoras de crescimento, uma vez que o uso exagerado de fungicidas no tratamento de sementes pode comprometer o efeito da inoculação, desde a germinação das sementes até a produção (Hungria & Nogueira, 2022).

Sendo assim, este estudo objetivou avaliar o tratamento de sementes e da inoculação com *A. brasilense*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *P. aryabhattai* na germinação de sementes de milho.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Caracterização da área experimental

O experimento foi realizado em três fases. A primeira foi desenvolvida no Laboratório de Interações microbianas e Biotecnologia (LIMBio), do Instituto Federal Goiano - Campus Ceres, onde foi realizado o preparo das amostras e inoculação das sementes de milho com as bactérias.

Em cultivo protegido, a segunda fase foi realizada na área experimental do Instituto Federal Goiano - Campus Ceres, localizado nas coordenadas geográficas 15°21'3" S, 49°35'55" O, na cidade de Ceres - GO. O clima do local, segundo o Sistema Internacional de Köppen, é do tipo Tropical (Aw) quente e semiúmido, apresentando regime pluvial bem definido, com período de chuvas entre outubro-março e estação seca de abril-setembro.

A casa de vegetação utilizada apresenta cobertura de polietileno de baixa densidade, transparente, em formato tipo arco, com 7 m de largura e 20 m de comprimento. As paredes laterais e frontais são confeccionadas com telas antiafídeos fixas. O solo é de chão batido, mas os canteiros com areia ficam cercados por muretas de cimento.

A terceira fase foi realizada no Laboratório de Análises de Sementes (LAS) da mesma Instituição, localizada nas coordenadas -15,349877, -49,597613. O germinador utilizado foi uma câmara vertical, tipo B.O.D., contendo 10 prateleiras removíveis de arame, controle de temperatura, circulador de ar, por meio de ventoinha contínua e difusor vertical, com água na cuba superior e inferior, sem iluminação. Durante a realização do experimento, todas as prateleiras do germinador foram ocupadas pelos sacos plásticos dispostos na posição horizontal.

5.2.2. Material biológico

As sementes de milho da cultivar AG 1051, utilizadas neste trabalho, foram adquiridas comercialmente da empresa Agrocere, já tratadas com os ingredientes ativos: Fludioxonil 2,5% (Fungicida) + Metaxil-M 2,0% (Fungicida) + Tiabendazol 15% (Inseticida) + Deltametrina 2,5% (Inseticida) + Pirimifós – Metilico 50% (Inseticida) + Polioxietileno Alquil Fenol Éter 20% (Espalhante adesivo).

Os inoculantes comerciais utilizados foram: Bio Raiz Pro (SoluBio) composto por *Bacillus subtilis* (Estirpe UVF S1) 1×10^8 UFC/mL; BioHidric (SoluBio) formulado com *Priestia aryabhatai* (*syn. B. aryabhatai*) a 1×10^8 UFC/mL; SoluStrong (SoluBio)

composto por *Bacillus amyloliquefaciens* a 1×10^8 UFC/mL; NoduGram L (Nodusoja) formulado com *Azospirillum brasilense* a 2×10^8 UFC/mL.

5.2.3. Inoculação de sementes de milho

Para a inoculação, utilizou-se 200 sementes para cada tratamento, que recebeu 25 mL de inoculante comercial, exceto o tratamento controle que recebeu o mesmo volume de caldo nutriente estéril (Kasvi®). Para isso, as sementes foram acondicionadas em sacos plásticos, onde foram microbiolizadas com os inoculantes por 30 minutos, em temperatura ambiente (Figura 1). Após esse período, as sementes foram dispostas em placas de Petri, dentro do fluxo laminar para secarem e, então, foram semeadas em canteiro com substrato areia.



Figura 1. (A) Microbiolização de sementes de milho com *B. amyloliquefaciens*; (B) Sementes de milho microbiolizadas dentro de fluxo laminar

Fonte: Polliany Santos Xavier, 2024.

5.2.4. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), dispostos em um esquema fatorial de 2×5 , sendo: 2 tratamentos químicos de sementes (com e sem), para o tratamento sem produto químico; as sementes foram lavadas com água até

completa retirada do produto; 5 inoculantes: *Bacillus subtilis*, *Priestia aryabhatai*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Azospirillum brasilense* e controle, sem inoculação. Cada tratamento foi composto por 200 sementes e com 4 repetições.

Foram realizados dois experimentos, em locais distintos. O primeiro foi realizado no Laboratório de Sementes (LAS), com teste de germinação feito em papel Germitest, dentro da câmara de germinação, conforme descrito a seguir; o outro, realizado em canteiro com areia em casa de vegetação: T1 – Sementes não tratadas + *Azospirillum brasilense*; T2 – Sementes tratadas + *Azospirillum brasilense*; T3 – Sementes não tratadas + *Bacillus subtilis*; T4 – Sementes tratadas + *Bacillus subtilis*; T5 – Sementes não tratadas + *Bacillus amyloliquefaciens*; T6 – Sementes tratadas + *Bacillus amyloliquefaciens*; T7 – Sementes não tratadas + *Priestia aryabhatai*; T8 – Sementes tratadas + *Priestia aryabhatai*; T9 – Sementes não tratadas + sem inoculação (controle) e T10 – Sementes tratadas + sem inoculação (controle).

5.2.5.Experimento em Laboratório

O teste de germinação foi realizado dispondo as sementes em papel Germitest umedecido com água destilada estéril somente na sementeira, em volume equivalente a 2,5 vezes da sua massa. Para cada rolo confeccionado, foram utilizadas três folhas de papel Germitest, duas folhas na base e uma folha de papel de cobertura, posteriormente enroladas e colocadas em sacos plásticos. Esses sacos foram acondicionados em câmara germinadora do tipo B.O.D., regulado para manter temperatura constante de 25 ± 2 °C, sem iluminação. O teste foi realizado de acordo com critérios estabelecidos por Brasil (2009).

A avaliação da germinação foi realizada no sétimo dia após a instalação do teste (Brasil, 2009), bem como avaliou-se o crescimento de plântulas somente em plântulas normais, eliminando as anormais e as sementes mortas, mensurando o comprimento de raiz (CR), comprimento de parte aérea (CPA), utilizando régua graduada, volume de raiz (VR), utilizando proveta graduada e massa seca de raiz (MSR).

Em seguida, as raízes foram acondicionadas em sacos de papel e levadas para secar em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 105°C, até atingir peso constante, por aproximadamente 18 horas. Na sequência, foi pesado o material em balança digital de precisão e obteve-se a massa seca de raiz (MSR). As avaliações foram

realizadas utilizando 10% da quantidade total das sementes por tratamento, ou seja, foram avaliadas 20 plântulas, exceto para a germinação.

5.2.6. Experimento em canteiro com areia

A avaliação da emergência de plântulas de milho foi feita em canteiros com a utilização de substrato areia. As plântulas foram contadas como normais aos sete dias após a semeadura (Bono et al., 2008). Os canteiros tinham cerca de 1 metro de largura e 10 metros de comprimento.

A semeadura foi realizada manualmente a cerca de 3 cm de profundidade. Logo depois, as sementes foram cobertas com uma camada bem fina de areia e irrigadas por aspersão.

Sete dias após a semeadura (DAS), foram realizadas as avaliações da emergência, número de folhas, altura de plântulas, comprimento de raiz, volume de raiz, massa seca da raiz e massa seca de parte aérea. As avaliações foram realizadas utilizando-se 10% da quantidade total de sementes por tratamento, isto é, foram avaliadas 20 plântulas, exceto para a germinação (Brasil, 2009).

Para estimar a altura de plântulas e comprimento de raiz, utilizou-se uma régua graduada. Para estimar o volume radicular, as raízes foram cortadas e imersas em água numa proveta graduada (Rossiello et al., 1995). Raízes e parte aérea foram submetidas à desidratação em estufas com circulação forçada de ar, a 105 °C, até atingir peso constante, para determinação da massa de matéria seca de raiz e parte aérea.

5.2.7. Análise estatística

Os dados foram tabulados e submetidos ao teste de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (5%). Em seguida, foi utilizado o teste de Análise de Variância (ANOVA) e, quando necessário, o teste de comparação múltipla Tukey. Foi considerada diferença significativa entre os tratamentos $P < 0,05$. Todas as análises foram realizadas pelos softwares R e R Studio, versão 4.4.0 (R Core Team, 2024).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. TESTE DE GERMINAÇÃO EM LABORATÓRIO

Constatou-se diferença significativa a 5% de probabilidade em quase todas as variáveis analisadas no experimento. Quando foram comparadas as espécies bacterianas usadas para inocular as sementes de milho com sementes não tratadas e tratadas, não houve interação significativa (Tabela 1), exceto para a variável massa seca da raiz.

Tabela 1. Germinação (G), Plantas normais (PN), Sementes mortas (SM), Comprimento da parte aérea (CPA), Comprimento da raiz (CR), Volume de Raiz (VR) de plântulas de milho inoculadas com diferentes bactérias e controle.

Bactérias	G	SM	CPA	CR	VR
	%	%	Cm	cm	cm³
Controle	72 a	28 d	7,11 b	7,22 a	0,35 a
<i>A. brasilense</i>	67 ab	33 d	11,5 a	10,13 a	0,35 a
<i>B. subtilis</i>	32,2 c	67,75 b	4,89 b	3,08 b	0,26 a
<i>B. amyloliquefaciens</i>	9,5 d	90,5 a	5,38 b	3,64 b	0,11 b
<i>P. aryabhattai</i>	58 b	42,25 c	11,35 a	9,76 a	0,35 a
CV (%)	13,42	11,72	22,15	33,32	24,64

* Valores seguidos da mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Pôde-se observar que a germinação apresentou diferença significativa, sendo: no tratamento controle, o maior resultado; no tratamento com *B. amyloliquefaciens*, o que apresentou menor germinação (Tabela 1). O tratamento com *A. brasilense* não se diferenciou estatisticamente do tratamento controle, obtendo a segunda maior germinação de sementes.

De acordo com Rampim et al. (2020) e Santos *et al.* (2014), a interferência de bactérias diazotróficas pode elevar o acúmulo de solutos orgânicos, alterando equilíbrio osmótico e alterando processos como germinação, pela embebição das sementes. Essa alteração pode interferir de forma positiva ou negativa na germinação, dependendo dos níveis de acúmulo de solutos e concentração de hormônios na semente.

Os resultados deste trabalho corroboram aos de Fipke et al. (2019), em que uma das estratégias que pode ser aplicada na cultura do milheto, visando o melhor desempenho de plântulas, é a utilização de *Azospirillum brasilense*, rizobactéria promotora de crescimento vegetal (RPCV) recomendada para uso em gramíneas.

A quantidade de sementes mortas (SM) foi observada em menor número para o tratamento controle e o *A. brasilense*; o maior número de SM foi observado no

tratamento com *B. amyloliquefaciens*, influenciando negativamente a germinação de sementes de milho nessas condições.

As bactérias *A. brasilense* e *P. aryabhattai* proporcionaram maior comprimento da parte aérea (CPA) para plântulas de milho, diferenciando-se dos demais tratamentos. Observou-se também maior CR para os tratamentos controle, *A. brasilense* e *P. aryabhattai*, com destaque para o tratamento com *A. brasilense* com maior CR (10,13 cm).

Lizágarra-Sánchez et al. (2015) observaram que *Bacillus* sp. B25 promoveu o crescimento de plantas de milho em 30%. Lin et al (2019) observaram que *B. subtilis* IN-937a, *Bacillus safenis* SE-52, *Bacillus altitudinis* INR-7, *Lysinibacillus xylanilytics* SE-56 e *Paenibacillus peoriae* E-681 promoveram acréscimo de 30% da produção de biomassa em plântulas de milho com a utilização de metade da adubação nitrogenada recomendada para a cultura.

Para a variável volume de raiz (VR), não houve diferença significativa entre os tratamentos com as bactérias *A. brasilense*, controle, *B. subtilis* e *P. aryabhattai*. O menor VR foi verificado no tratamento com a bactéria *B. amyloliquefaciens* (0,11 cm³) (Tabela 1).

Tabela 2. Germinação (G), Plantas normais (PN), Sementes mortas (SM) de sementes de milho com e sem tratamento de inseticidas e fungicidas

Tratamentos	G (%)	SM (%)
Sementes não tratadas	50,7 a	49,3 b
Tratadas	44,8 b	55,20 a
CV (%)	13,42	11,72

* Valores seguidos da mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

A germinação foi maior nas sementes de milho não tratadas com inseticidas e fungicidas, a 5% de probabilidade. As sementes de milho tratadas apresentaram maior número de sementes mortas. Esses resultados podem indicar que o processo de lavagem da semente pode ter proporcionado maior umidade e condições mais favoráveis para a germinação do embrião. Santos et al. (2020) citam que o uso de pesticidas no tratamento

de sementes pode afetar a sobrevivência de bactérias utilizadas como inoculantes e o crescimento vegetal.

Foi observada interação significativa entre a inoculação das sementes com os inoculantes e sementes tratadas e não tratadas com produtos químicos, para a variável massa seca de raiz (Tabela 3). Houve diferença significativa à 5% de probabilidade para as bactérias *B. subtilis* e *P. aryabhattai*, que apresentaram resultados significativamente superior para MSR, quando não tratadas com produtos químicos. Quando as sementes eram tratadas quimicamente, notou-se maior MSR para a inoculação com *B. subtilis*, seguida por *P. aryabhattai* e *A. brasiliense*, a 5% de significância.

Tabela 3. Massa seca de Raiz (MSR) em gramas de plântulas de milho inoculadas com diferentes bactérias, tratadas e não tratadas com fungicida e inseticidas

Bactérias	Sementes não tratadas	Sementes Tratadas
Controle	0,031 dB	0,053 cA
<i>A. brasiliense</i>	0,073 bB	0,092 bA
<i>B. subtilis</i>	0,102 aB	0,113 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i>	0,057 cA	0,052 cB
<i>P. aryabhattai</i>	0,100 aA	0,089 bB
CV (%)	3,91	

Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas, comparando os tratamentos de inoculação e médias seguidas pelas mesmas letras, maiúsculas nas linhas, comparando a utilização de produtos químicos ou não, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Santos et al. (2017) apontam que *B. aryabhattai* é um micro-organismo benéfico capaz de incrementar a biomassa radicular na cultura do milho e em genótipos de cana de açúcar. Segundo Vieira (2017), as bactérias promotoras de crescimento de plantas podem contribuir para o desenvolvimento do vegetal tanto pela fixação de N₂, quanto pelo aumento da solubilização de fosfato, controle de fitopatógenos e produção de fitormônios que promovem o desenvolvimento e crescimento da raiz, principalmente a auxina, aumentando a absorção de água e de nutrientes, consequentemente, a planta passa a ter maior resistência em situações de estresse como deficiência hídrica.

Guerra et al. (2024) observaram que *B. subtilis* via semente + uma aplicação via solo em milho aos 90 DAE se sobressaiu para variável MSR, quando comparado aos demais tratamentos testados, proporcionando maior incremento de massa seca de raiz.

Segundo Machado et al. (2020), ao realizar aplicação de *B. subtilis* em plantas de milho houve aumento significativo no crescimento do sistema radicular e no acúmulo e partição de biomassa. Podendo atribuir que esse incremento se deve à produção de alguns hormônios por parte dessas bactérias, tais como o ácido indolacético (AIA), responsável pela regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas e indolbutírico (AIB), responsável por estimular formação de raízes secundárias.

5.3.2.EXPERIMENTO EM CANTEIRO COM AREIA

Constatou-se diferença significativa a 5% de probabilidade em todas as variáveis analisadas no experimento em canteiro com areia, quando comparadas as bactérias na inoculação de sementes de milho, não havendo interação entre inoculação e tratamento químico de sementes, exceto para a variável massa seca da raiz (Tabela 4).

Tabela 4. Germinação (G), Altura de plântula (AP), Número de Folhas (NF), Massa seca de Folha (MSF), Comprimento da raiz (CR) e Volume de Raiz (VR) de plântulas de milho inoculadas com diferentes bactérias e controle

Bactérias	G %	AP cm	NF	MSF g	CR cm	VR cm ³
Controle	76,50 ab	2,57 a	1,62 a	0,18 b	18,63 a	0,64 ab
<i>A. brasilense</i>	79,75 a	2,68 a	1,67 a	0,21 a	18,97 a	0,83 a
<i>B. subtilis</i>	31,0 c	1,96 bc	1,15 b	0,14 c	16,07 a	0,47 bc
<i>B. amyloliquefaciens</i>	16,0 c	1,62 c	1,15 b	0,15 c	16,31 a	0,37 c
<i>P. aryabhattai</i>	59,25 b	2,34 ab	1,47 a	0,19 b	18,17 a	0,55 bc
CV (%)	25,71	14,84	15,43	5,59	11,46	27,33

* Valores seguidos da mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Para a variável germinação de sementes, os maiores resultados foram nos tratamentos controle e *A. brasilense*. Apresentando maior AP e maior NF, os tratamentos

controle, *A. brasilense* e *P. aryabhattai*, foram estatisticamente iguais. Já para MSF, o tratamento com *A. brasilense* foi estatisticamente superior (0,21 g) a todos os demais tratamentos. A inoculação com *A. brasilense* e tratamento controle proporcionaram maiores VR, apresentando maior valor o tratamento *A. brasilense* com 0,83 cm³. Não houve diferença estatística entre as bactérias para variável CR.

Porto et al. (2020) constataram aumento de 15,3% e 3% no comprimento de raiz e altura de plantas aos 8 e 30 DAS, respectivamente, com a inoculação de *A. brasilense* em sementes de milho, quando comparados ao tratamento controle.

Tonin (2019), ao avaliar a inoculação isolada de *A. brasilense* na cultura do milho, não obteve influência no incremento para as variáveis germinação de sementes, comprimento de raiz e de parte aérea, diferenciando com os resultados obtidos neste trabalho.

Sousa et al. (2012) também observaram elevação do volume de raiz em híbrido de milho DKB 390® ao inocular com *Azospirillum* e *Herbaspirillum*. De forma geral, *Azospirillum* pode induzir alongamento das células radicular, devido à produção de AIA (ácido indol-3-acético), interferindo diretamente no aumento do sistema radicular (Moreira et al. 2010).

Pode-se notar diferença significativa entre as sementes tratadas quimicamente ou não, quando se avaliou CR e MSF (Tabela 5), podendo-se destacar maior CR e MSF, de 18,56 cm e 0,18 g, respectivamente, para as sementes tratadas.

Tabela 5. Comprimento da raiz (CR), e Massa seca de Folha (MSF) de sementes de milho com e sem tratamento de inseticidas e fungicidas

Tratamentos	CR Cm	MSF g
Não tratado	16,70 b	0,17 b
Tratado	18,56 a	0,18 a
CV (%)	11,46	5,59

Valores seguidos da mesma letra, em cada coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Dartora et al. (2013) concluíram que o tratamento de sementes com fungicidas-inseticidas não prejudica o desenvolvimento inicial das plântulas de milho e trigo e é compatível com a inoculação de estirpes de *A. brasilense*. Isso corrobora os resultados obtidos nas condições deste trabalho.

Munareto et al. (2018), ao avaliarem a compatibilidade de *A. brasilense* com fungicida, na cultura de trigo, verificaram que o comprimento da raiz diminuiu quando as sementes foram tratadas com fungicida (Difenoconazole – 150 mL por 100 kg de sementes).

Houve diferença entre *A. brasilense* e as sementes tratadas com fungicidas e inseticidas, sendo que essa bactéria foi responsável pela maior MSR (Tabela 6). Isso demonstra que o tratamento de sementes de milho com inseticidas e fungicidas não prejudica a bactéria *A. brasilense* quando inoculada.

Tabela 6. Massa seca de Raiz (MSR) de plântulas de milho inoculadas com diferentes bactérias, lavadas e tratadas com fungicida e inseticidas.

Bactérias	Não tratado	Tratado
Controle	0,23 bA	0,23 cA
<i>A. brasilense</i>	0,32 aB	0,35 aA
<i>B. subtilis</i>	0,18 cA	0,18 dA
<i>B. amyloliquefaciens</i>	0,15 dB	0,19 dA
<i>P. aryabhatai</i>	0,23 bB	0,25 bA
CV (%)	4,17	

Os dados são apresentados pelo desdobramento da interação significativa entre inoculante e sementes tratadas ou não com fungicidas e inseticidas da ANOVA a 5% de probabilidade. Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas, comparando os tratamentos de inoculação, e médias seguidas pelas mesmas letras, maiúsculas nas linhas, comparando a utilização de fungicida ou não, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes aos de Camargo et al. (2022), quando citam que a bactéria *A. brasilense* proporciona acréscimo de matéria seca e acúmulo de N nas plantas e nos grãos. Destaca-se que esse resultado foi observado também para o teste de germinação em laboratório.

Dartora et al. (2013), em relação às sementes tratadas para a variável massa seca das raízes, observaram que ambas as estirpes estudadas de *A. brasilense* foram compatíveis com os agrotóxicos. Os autores também relataram que sementes inoculadas com as estirpes Ab-V5 e IC26 e tratadas com os produtos químicos tiveram maior acúmulo de matéria seca de raízes.

Esse resultado é muito importante, pois sabe-se que o maior acúmulo de massa seca pode ser reflexo de uma raiz com grande capacidade de absorver sais minerais que

serão translocados para as demais estruturas da planta (Cavalcante, 2022).

Tal acréscimo de MSR (Tabela 6) em plântulas inoculadas com *A. brasilense* corroboram aos de Cassán et al. (2020), quando relatam que as raízes são as principais estruturas modificadas pelo *Azospirillum*, pois a síntese de AIA pelas bactérias promove maior desenvolvimento de raízes laterais, adventícias e dos pelos radiculares que, por consequência, aumenta a capacidade de absorção de água e nutrientes pelas plantas (Costa et al., 2015).

Porto et al. (2020) também relatam sobre a síntese de AIA, promovida por *Azospirillum*, podendo proporcionar aumento do sistema radicular, que explorará maior área do solo, favorecendo a absorção de água e nutrientes, ajudando no bom desenvolvimento vegetal e refletindo positivamente rendimento de grãos.

5.4.CONCLUSÃO

No experimento de germinação de sementes de milho em laboratório, as bactérias *A. brasilense* e *P. aryabhattai*, juntamente com o tratamento controle não inoculado, proporcionam maior comprimento de parte aérea e de raiz em plântulas de milho.

As bactérias *B. subtilis* e *P. aryabhattai*, associadas às sementes sem o tratamento químico, proporcionam maior massa seca de raízes. Quando em associação, as sementes tratadas quimicamente, a inoculação de *B. subtilis* também proporciona maior massa seca de raiz.

Para o teste de germinação em canteiro com areia, a inoculação com *A. brasilense* proporcionou maior germinação, maior número de folhas, maior volume de raízes e maior altura de plântulas de milho e massa seca foliar e de *P. aryabhattai* para as variáveis altura de plântulas e número de folhas. Notou-se maior comprimento de raiz, massa seca de folhas e massa seca de raiz para as sementes tratadas com fungicidas e inseticidas, inoculadas com *A. brasilense*.

5.5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, R.B.; **Efeito do uso de bactérias multifuncionais na cultura do milho (*Zea mays* L.)**; PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS ; Dissertação de graduação em Agronomia; **Goiânia, 2024.**

BONO, J. A. M., RODRIGUES, A. P. D. C., MAUAD, M., ALBUQUERQUE, J. C., YAMAMOTO, C. R., CHERMOUTH, K. S & FREITAS, M. E; Modo de aplicação de fertilizantes nitrogenados na qualidade fisiológica de sementes de milho. **Agrarian**, 1(2), 91-102; 2008.

BRASIL. **Regras para Análises de Sementes - RAS**; Ministério da Agricultura e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária.; MAPA, Brasília, 2009. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura>. Acesso em: 04 de agosto de 2024.

CARDOSO, I. R. M.; ECKARDT, M.; AFFÉRI, F. S.; MARTINS, G. A. S.; PELUZIO, J. M.; MOURA, J. S.; SANTOS, P. C. L.; BORGES, L. J. F.; BIASE, R. S. Rendimento do milho doce e verde para consumo "*in natura*" cultivados no Tocantins. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, e11910313082, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13082>

CAMARGO, K. C., CASTRO, B., MENEZES, L. M., & LOPES, M. M. Inoculação com *Azospirillum brasilense* para a produção de milho para silagem. **Research, Society and Development**, 2022; 11(3), e6611326165-e6611326165.

CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G.; MOLINA, R.; NIEVAS, S.; CARLAN, C, L.; DONADIO, F.; TORRES, D.; ROSAS, S.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E.; ZORITA, M. D. ; DE-BASHAN, L.; MORA, V. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, v.56, p.461-479, 2020.

CAVALCANTE, H.S.; **PRODUÇÃO DE MILHO-VERDE ‘P3858PWU’ INOCULADO COM *Bacillus licheniformis* E *Bacillus amyloliquefaciens* NO CERRADO MARANHENSE**; TCC de Graduação do Curso de Agronomia do Campus de Chapadinha; Maranhão, 2022.

COSTA, R. R. G. F.; QUIRINO, G. S. F.; NAVES, D. C. F.; SANTOS, C. B.; ROCHA, A. F. S. Efficiency of inoculant with *Azospirillum brasilense* on the growth and yield of second-harvest maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.45, p.304-311, 2015.

DARTORA, J.; GUIMARÃES, V.F.; MARINI, D.; PINTO JÚNIOR, A.S.; CRUZ, L.M.; MENSCH, R.; Influência do tratamento de sementes no desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculados com *Azospirillum brasilense*; **Scientia Agraria Paranaensis**; Mal. Cdo. Rondon, v. 12, n. 3, jul./set., p.175-181, 2013, DOI: 10.18188/1983-1471/sap.v12n3p175-181.

FIPKE, G. M.; PINTO, M. A. B.; NUNES, U. R.; MARTIN, T. N. Protetor, inoculação e tratamento fitossanitário na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Ciencias Agrárias**, Recife, v.14, n.1, p. 1-6, 2019.

GUERRA, A. M. N. M.; GOMES, T. M.; DIAS, M. S.; SANTOS, A. S.; Formas de aplicação de *Bacillus methylotrophicus* e *Bacillus subtilis* no crescimento e produção de milho. **Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara**, v. 6, n. 1, jan/abr 2024. Disponível em: <http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital>. Acesso em: 16 set. 2024.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Fixação biológica do nitrogênio. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (ed.). **Bioinsumos na cultura da**

soja. Brasília, DF: Embrapa, 2022. cap. 8, p. 143-162.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; TAKETANI, R. G.; VASCONCELLOS, R. L. F.; MELO, I. S. *Draft genomes sequence of plant growth-promoting drought tolerant Bacillus sp. Strain CMAA 1363 isolated from the Brazilian caatinga biome. Genome Announ cements*, v.5, n.5, p. e01534-16, 2017.

LIN, Y.; WATTS, D.B.; KLOEPPER, J.W.; ADESEMOYE, A.O.; FENG, Y. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria at various nitrogen rates on corn growth. *Agricultural Sciences*, Wuhan, v.10, n.12, p.1542-1565, 2019.

LIZÁRRAGA-SÁNCHEZ, G.J.; LEYVA-MADRIGAL, K.Y.; SÁNCHEZ-PEÑA, P.; QUIROZ-FIGUEROA, F.R.; MALDONADO-MENDOZA, I.E. *Bacillus cereus* sensu lato strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. *Field Crops Research*, Amsterdam, v.176, v.1, p.11-21, 2015.

MACHADO, R. W. B; CALVI, V. O.; PACCOLA, E. A. S.; SCHMDIT FILHO, E.; GASPAROTTO, F. Inoculação foliar de plantas de milho com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*. *Revista Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, v.17, n.34, p. 289, 2020.

MAY, A.; MOREIRA, B. R. A.; MASCARIN, G. M.; VIANA, R. S.; SANTOS, M. S.; SILVA, E. H. F. M.; DE MELO, I. S. Induction of drought tolerance by inoculation of *Bacillus aryabhattai* on sugarcane seedlings. *Científica*, v. 47, n. 4, p. 400-410, 2019.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: Diversidade, ecologia e potencial de aplicações. *Comunicata Scientiae*, v.1, n.2, p.74- 99, 2010.

MUNARETO, J. D., MARTIN, T. N., MÜLLER, T. M., NUNES, U. R., ROSA, G. B. DA, & GRANDO, L. F. T. (2018). Compatibilidade de *Azospirillum brasilense* com fungicida e inseticida na qualidade fisiológica de sementes de trigo. *Semina: Ciências Agrárias*, 39(2), 855–864. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n2p855>

PORTO, L.S.; COSTA, R.R.G.F.; SILVA, F.V.; ROCHA, A.F.S.; Microrganismos eficazes e *Azospirillum brasilense*: efeitos sobre a produtividade do milho; *Revista de Biotecnologia e Ciência*; v.9; n.2; p.11-21; 2020.

R Core Team **Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2024. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 4 ago.2024.

RAMPIM, L.; GUIMARÃES, V. F.; SALLA, F. H.; COSTA, A. C. P. R.; INAGAKI, A. M.; BULEGON, L. G.; FRANÇA, R. Desenvolvimento inicial de plântulas de milho reinoculadas com bactérias diazotróficas. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 5, e24953109, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i5.3109>.

SANTOS, M. et al.; Resistan ceto water déficit during the formation of sugar canesee dlings media te dby interaction with *Bacillus sp.*; *Científica*, Londrina, v.45, n.4, p.414-421, 2014.

SANTOS, M. S.; RONDINA, A. B. L.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Compatibility of *Azospirillum brasilense* with Pesticides Used for Treatment of Maize Seeds. **International Journal of Microbiology**, v. 2020, p. 1–8, 10 jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8833879>

SOUSA, R. F. B.; GUIMARAES, V. F.; PINTO JUNIOR, A. S.; ORO, T. H. Avaliação da qualidade sanitária de sementes de milho provenientes do cultivo associado com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*. **Revista Cultivando o Saber**, v. 5, n. 4, p.213-218, 2012.

TONIN, J. C. **Influência da inoculação de *Azospirillum brasilense* em diferentes temperaturas na germinação de sementes de milho (*Zea mays*)**. 2019. 38p. TCC (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal da Fronteira do Sul, 2019.

VIEIRA, R. F.; **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**; Brasília, DF : Embrapa, 2017.

6. CONCLUSÃO GERAL

A aplicação de 160 kg ha⁻¹ de N proporciona os melhores resultados para altura de planta, diâmetro de colmo, número total de folhas vivas, e índice de clorofila total. Porém a aplicação de 120 kg ha⁻¹ de N possibilita o melhor resultado para altura da planta aos massa seca da raiz, volume de raiz e massa fresca de raiz, aos 90 DAE. A supressão hídrica proporcionou maior número de folhas vivas, número de folhas totais, e altura de plantas.

Analizados em conjunto, os dados obtidos neste trabalho apontam que as bactérias *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. aryabhattai* promovem incrementos significativos para a germinação e crescimento inicial de plântulas de milho, podendo ser indicadas para uso nesta cultura, contribuindo para uma agricultura mais sustentável e rentável ao produtor.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASU, A.; PRASAD, P.; DAS, S. N.; KALAM, S.; SAYYED, R. Z.; REDDY, M. S.; EL ENSHASY, H. *Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, conlinhagemts, and prospects*. **Sustainability**, v. 13, 2021.

KHATOON, Z.; HUANG, S.; RAFIQUE, M.; FAKHAR, A.; KAMRAN, M. A.; SANTOYO, G. *Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on*

soil health and the sustainability of agricultural systems. *Journal of Environmental Management*, v. 273, p.111-118, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111118>.

MACHADO, R. W. B.; CALVI, V. O.; PACCOLA, E. A. S.; SCHMDIT FILHO, E.; GASPAROTTO, F. Inoculação foliar de plantas de milho com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*. *Revista Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, v.17, n.34, p. 289, 2020.

MORENO, A. L.; KUSDRA, J. F.; PICAZEVICZ, A. A. C. Crescimento do milho em resposta a *Azospirillum brasilense* e nitrogênio. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, Aracaju, v. 10, n. 5, p. 287-294, 2019. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2019.005.0025>

NASCIMENTO, F. N.; BASTOS, E. A.; CARDOSO, M. J.; ANDRADE JÚNIOR, A. S.; RAMOS, H. M. 2017. Desempenho da produtividade de espigas de milho verde sob diferentes regimes hídricos. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 16: 94-108. DOI: <http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v16n1p94-108>.

PRADO, R. M.; **Nutrição de plantas**; 2. ed. São Paulo: Editora Unesp. v. 1, p. 414, 2020.

ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. *Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture*. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, n. 1655, 2018.

VIEIRA JUNIOR, P. A. et al.; **Geopolítica do alimento: o Brasil como fonte estratégica de alimentos para a humanidade**. Área de Informação da Sede-Livro científico (ALICE), 2019.