

---

# Micro-organismos eficazes e *Azospirillum brasilense*: efeitos sobre a produtividade do milho

## Effective microorganisms and *Azospirillum brasilense*: effects on corn yield

Lucas Silveira Porto<sup>1</sup>, Raoni Ribeiro Guedes Fonseca Costa<sup>1\*</sup>, Flávio Vicente da Silva<sup>1</sup>, Ana Flávia de Souza Rocha<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UEG-Universidade Estadual de Goiás Campus Sudoeste, Quirinópolis, GO-Brasil

<sup>2</sup>IFgoiano Campus Rio Verde, Rio Verde, GO-Brasil

\*autor correspondente: [raoniueg@hotmail.com](mailto:raoniueg@hotmail.com)

Recebido: 22/06/2020; Aceito: 11/08/2020

---

### RESUMO

O setor agrícola tem buscado desenvolver suas atividades de forma mais sustentável, e visando minimizar os impactos ambientais desse setor cada vez mais competitivo, o uso de micro-organismos diazotróficos e promotores do crescimento vegetal é uma alternativa viável. Objetivou-se, avaliar a eficiência da aplicação de micro-organismos eficazes e *Azospirillum brasilense* no crescimento e produtividade do milho. O experimento foi conduzido em condição de campo, em delineamento experimental em blocos casualizados, com três tratamentos e quatro repetições. O efeito dos micro-organismos no milho, foi avaliado pelas mensurações biométricas e de produtividade. Os tratamentos foram: controle, sementes microbiolizadas com *Azospirillum brasilense* e sementes microbiolizadas com micro-organismos eficazes. O uso do micro-organismos eficazes apresentou efeito expressivo no crescimento inicial do milho, influenciou positivamente matéria fresca e seca, no comprimento da raiz e altura de plantas. No entanto, não apresentou efeito na produtividade de grãos do milho, sendo esta influenciada pelo uso do *Azospirillum brasilense*.

**Palavras-chave:** Bactérias promotoras do crescimento. Bactéria diazotrófica. Matéria seca da raiz. *Zea mays* L.

### ABSTRACT

The agricultural industry has been seeking to develop its activities more sustainably and, in order to mitigate the environmental impacts of this increasingly competitive sector, the use of diazotrophic and plant growth-promoting microorganisms is a feasible alternative. We aimed to assess the efficiency of applying effective microorganisms and *Azospirillum brasilense* in corn growth and yield. The experiment was conducted in field conditions, with an experimental design of randomized blocks with three treatments and four replicates. The effect of microorganisms on corn was assessed by biometric and growth measurements. Treatments consisted of control, seeds microbiolized with *Azospirillum brasilense*, and seeds microbiolized with effective microorganisms. The use of effective microorganisms showed an expressive effect in corn initial growth, and positively influenced fresh and dry matter

mass, root length and plant height. However, there was no effect on corn yield, which was influenced by the use of *Azospirillum brasilense*.

**Keywords:** Growth-promoting bacteria. Diazotrophic bacteria. Root dry matter. *Zea mays* L.

## INTRODUÇÃO

O crescimento da população humana, tem requerido cada vez mais o aumento da produção de alimentos e exigido a otimização dos sistemas agrícolas, uma vez que, o modelo de agricultura atual tem enfrentado restrições, principalmente em relação a insumos (SAATH e FACHINELLO, 2018). O aumento da produção dependente, sobretudo, de fertilizantes químicos industrializados advindos de fontes não renováveis como o fósforo e potássio (PANTANO et al., 2016), e do uso de agroquímicos sintéticos, entretanto, apesar das altas taxas de produção, este, é um sistema insustentável, tendo como consequência a degradação ambiental (ARMSTRONG e TAYLOR, 2014). Visando tornar a agricultura mais sustentável, pesquisas tem isolado, identificado e avaliado o efeito benéfico do uso de micro-organismos para o incremento em crescimento e produtividade de plantas cultivadas, como exemplo o uso de *Bradyrhizobium japonicum* na cultura da soja (HUNGRIA, 2015), *Azospirillum brasilense* nas culturas do milho e do trigo (HUNGRIA et al., 2011) e *Bacillus subtilis* nas culturas do milho, algodão e soja (MILANI et al., 2019).

Micro-organismos, estão relacionados a vários benefícios para a promoção do crescimento vegetal, com destaque a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (FUKAMI et al., 2016), a síntese de fitormônios como, auxinas, giberelinas e citocininas (CASSÁN et al., 2020), atividades de solubilização de fosfato, incrementos no desenvolvimento radicular (COSTA et al., 2015), aumento nos teores de clorofila e incremento na taxa fotossintética vegetal (GORDILLO-DELGADO et al., 2016; LOPEZ et al., 2019).

O uso de inoculantes comerciais tem condicionado o aumento da produtividade e do lucro para o produtor rural, Nogueira et al. (2018) verificaram que a inoculação da soja com *Bradyrhizobium* resulta em aumento médio de 1,8 saca ha<sup>-1</sup>, enquanto a coinoculação *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* resulta em aumento de 5,6 sacas ha<sup>-1</sup>. Considerando o valor da saca de soja a R\$ 72,00 e o custo da dose do inoculante à base de *Bradyrhizobium* a R\$ 3,00 ha<sup>-1</sup> e o inoculante à base de *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* a R\$ 12,00 ha<sup>-1</sup>, o lucro líquido da coinoculação seria equivalente a R\$ 390,00 ha<sup>-1</sup> e o da inoculação equivalente a R\$ 126,60 ha<sup>-1</sup>.

Os Micro-organismos eficazes (EM) são também, uma alternativa que pode ser utilizada para melhorar a produtividade das culturas e de forma mais sustentável (RIBEIRO et al., 2020). Os EM são constituídos por um consórcio de micro-organismos benéficos como fungos filamentosos, bactérias, leveduras, actinomicetos, dentre outros, encontrados naturalmente no ambiente (HIMANGINI et al., 2019), possuem ampla aplicação na agricultura seja por realizarem a biorremediação (VAXEVANIDOU et al., 2015); promoverem a redução da poluição ambiental, devido à minimização do uso de fertilizantes químicos industrializados e agrotóxicos (VALLS e LORENZO, 2002), por serem micro-organismos promotores do crescimento vegetal (MPCV); e aumentarem o rendimento de cultivo (TEIXEIRA et al., 2017; RIBEIRO et al., 2020).

Estão, também, associados com o aumento da atividade de micro-organismos nativos, o que facilita a absorção de fósforo e de zinco do solo, condicionam o crescimento vegetal via bactérias fotossintéticas, aumentam a atividade decompositora e a disponibilização de nutrientes para as plantas, são antagonistas à micro-organismos patogênicos do solo e facilitam o processo de germinação das sementes (BOSSUYTA e HENDRIX, 2005; MOWA e MASS 2012; JUSOH et al., 2013; JOHAN e JESPER, 2005).

São produzidos naturalmente, sem a necessidade de substâncias sintéticas, e, portanto, o uso de EM como inoculante é seguro, principalmente durante sua aplicação via pulverização, não trazendo riscos ambientais, não

contaminando o solo ou recursos hídricos (HIMANGINI et al., 2019). Diante ao exposto objetivou-se avaliar a eficiência da aplicação de EM e de *Azospirillum brasilense* no crescimento e produtividade do milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de estudo

O experimento foi conduzido em condição de campo, na Fazenda Fazendinha em Quirinópolis GO, Brasil (18°24'27" Latitude Sul, 50°23'49" Longitude Oeste), altitude de 832 m, em um Latossolo Vermelho distrófico (EMBRAPA, 2013), na Microrregião 18 e Mesorregião Sul Goiano, com temperatura média anual de 21 °C, sendo que as médias mensais variam pouco entre si, e pluviosidade média de 1.400 mm ano<sup>-1</sup>, distribuída de forma irregular durante o ano, com maior incidência nos meses de novembro a abril (GALINKIN, 2003). Antes da instalação do experimento, a área havia sido cultivada no sistema de Integração Lavoura-Pecuária (ILP) São Francisco, utilizando o milho e o capim mombaça, o que proporcionou, após sua dessecação, incremento na matéria orgânica do solo (MO), justificando os valores verificados na análise do solo.

Foram determinadas as características químicas e físicas do solo, para isso, coletou-se amostras do solo antes da semeadura na camada de 0-20 cm (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultados das análises químicas e físicas do solo coletado na profundidade de 0-20 cm, na área experimental da Fazenda Fazendinha.

| pH                             | M.O                      | Ca                                | K    | Mg  | Al   | CTC   | Al+H |  |  |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|------|-----|------|-------|------|--|--|
| -- (CaCl <sub>2</sub> ) --     | --- dm <sup>-3</sup> --- | ----- cmolc/dm <sup>3</sup> ----- |      |     |      | ----- |      |  |  |
| 5,36                           | 32,7                     | 1,7                               | 1,53 | 0,5 | 0,05 | 8,6   | 4,9  |  |  |
| Areia                          | Silte                    | Argila                            | P    | Fe  | MN   | Cu    | Zn   |  |  |
| ----- g kg <sup>-1</sup> ----- |                          | ----- mg/dm <sup>3</sup> -----    |      |     |      | ----- |      |  |  |
| 300                            | 130                      | 570                               | 0,5  | 51  | 12,4 | 48,8  | 5,2  |  |  |

Antes da implantação do experimento foram aplicados 4,5 L ha<sup>-1</sup> de herbicida glifosato N-(phosphonomethyl) glycine, concentração: sal de Amônio de glifosato 792,5 g kg<sup>-1</sup> (720 g kg<sup>-1</sup> equivalente ácido), para a dessecação do *Panicum maximum* (capim-mombaça) e Megathyrus (proveniente do sistema de ILP São Francisco), com volume de calda 150 L ha<sup>-1</sup>.

### Preparo dos Micro-organismos Eficazes (EM)

Para a captura dos micro-organismos foram preparadas "iscas", estas foram feitas cozinhando, aproximadamente, 700 g de arroz sem sal. O arroz cozido foi colocado sobre uma tábua de madeira de 15x20 cm. As tábuas num total de cinco, foram cobertas com tela fina de TNT sobre suportes de madeira, visando proteger contra ação direta do impacto das gotas de chuva. Estas foram, então, depositadas em mata de reserva legal da propriedade (18°24'22" Latitude Sul, 50°23'34" Longitude Oeste a 924 m de elevação). Colocadas as iscas, a serapilheira, que antes havia sido afastada, foi disposta ao redor das tábuas. Após 15 dias, os micro-organismos já haviam colonizado o arroz. Na seleção das colônias, foram mantidas nas iscas, somente as partes que continham arroz colonizado com as colorações rosada, azulada, amarelada e alaranjada, sendo descartadas as partes com coloração cinza, marrom e preto, conforme metodologia proposta por Bonfim (2011).

Para a ativação dos EM, as colônias de micro-organismos selecionados foram colocadas em um tambor plástico de 70 litros, adicionou-se 5 L de melão de cana e 50 L de água limpa, isenta de cloro, de poço semiartesiano. O recipiente foi fechado hermeticamente e deixado em descanso a sombra por 25 dias. Para reduzir

a pressão dos gases provenientes da fermentação anaeróbica, a cada dois dias o tambor era aberto, este procedimento ocorreu durante os 25 dias de fermentação anaeróbica. Após este período, o processo fermentativo cessou e o formulado de micro-organismos eficazes apresentou coloração alaranjada e odor doce agradável.

A quantificação das UFC foi realizada quando o EM estava pronto (26º dia), em que 1 mL de alíquota do formulado contendo EM, foi diluído em 9 mL de solução salina 0,85%, essa diluição foi feita com  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$  ( $0,00000001 \text{ g mL}^{-1}$ ). Em seguida, foi realizada a contagem microbiana em placas, por meio de nove placas de Petri com meio sólido de ágar nutriente, esterilizado. Posteriormente, foram pipetadas 0,1 mL das diluições  $10^{-5}$ , a alíquota foi colocada na placa e espalhada com auxílio de uma alça de Drigalsky, até a absorção completa da alíquota pelo meio. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa de crescimento microbiano Eletrolab RE 120 modelo EL 101/1 na temperatura de 29 °C. O crescimento de bactérias foi acompanhado até as 48 horas seguintes à inoculação, sendo as UFCs quantificadas a cada dia (GUERRA, 2016).

#### *Biomicrobiolização das sementes e semeadura do milho*

O milho híbrido simples BM 3063 da Biomatrix foi microbiolizado e semeado no dia 12 de novembro de 2018, com o auxílio de plantadeira mecanizada de sete linhas, com sulcos de profundidade de 3 cm. No momento da semeadura, foi realizada a fertilização química com  $400 \text{ kg ha}^{-1}$  de NPK 8-20-20. Aos 60 dias após a semeadura, (DAS) aplicou-se fertilização foliar utilizando o produto comercial Nitamin® (33% de N)  $8 \text{ L ha}^{-1}$ .

Como pós-emergente, aplicou-se 2 litros de herbicida glifosato N-(phosphonomethyl) glycine, concentração: sal de Amônio de glifosato  $792,5 \text{ g kg}^{-1}$  ( $720 \text{ g kg}^{-1}$  equivalente ácido), e 2 litros de Atrazina Nortox 500 SC (-6-chloro-N2 -ethyl-N4 -isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine (ATRAZINA),  $500 \text{ g L}^{-1}$  (50,0% m/v) por hectare. Para o controle de lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), aplicações (LORSBAN 480 BR) chlorpyrifos de ( $480 \text{ g L}^{-1}$ )  $1 \text{ L ha}^{-1}$  e para fungos utilizou-se (Abacus HC) equivalente a 260 g de Piraclostrobina e 160 g de Epoxiconazol ( $300 \text{ mL ha}^{-1}$ ).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 3 tratamentos: sementes de milho microbiolizadas com *Azospirillum brasilense*, sementes de milho microbiolizadas com EM e sementes não microbiolizadas (Controle). As parcelas experimentais foram constituídas por sete linhas de 6 m, com espaçamento de 0,50 m entre linhas com quatro blocos (repetições) e 3,5 plantas  $\text{m}^{-1}$  linear. A semeadura foi realizada, visando atingir uma população de 70.000 plantas  $\text{ha}^{-1}$ , em função da variedade do milho.

O inoculante comercial utilizado neste estudo foi *Azospirillum brasilense* – isolado AbV5, registro no MAPA nº MG-90399 10002-0, concentração  $1 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$  ( $12 \text{ mL } 5 \text{ kg}^{-1}$  de semente). Os micro-organismos eficazes foram utilizados na concentração de  $3,4 \times 10^5 \text{ UFC/mL}$  (unidade formadora de colônia) de formulado e dose aplicada de  $17 \text{ mL } 5 \text{ kg}^{-1}$  de sementes. A microbiolização das sementes foi realizada com auxílio de um saco plástico transparente e uma seringa de 50 mL. As sementes tratadas foram misturadas e secas a sombra por 20 minutos antes da semeadura.

As variáveis analisadas aos 8 dias após semeadura (DAS) foram: altura da parte aérea (AP), matéria fresca (MF), matéria seca (MS) e comprimento da raiz (CR). Aos 30 DAS: altura de plantas (AP) e diâmetro do colmo (DC). Aos 60 DAS: altura de plantas (AP), diâmetro do colmo (DC) e altura de inserção da primeira espiga (AIE). Aos 90 e 125 DAS: altura da planta (AP), diâmetro do colmo (DC), altura de inserção da espiga (AIE), matéria fresca parte aérea (MFPA), matéria fresca da raiz (MFR), matéria seca parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e comprimento da raiz (CR). Também foram obtidos aos 125 DAS, os dados do comprimento da espiga (CE), número de fileiras de grãos por espiga (NFGE), diâmetro da espiga (DE), diâmetro do sabugo (DS), massa do sabugo (MS), massa de 1.000 grãos (MMG) e produtividade de grãos em  $\text{kg ha}^{-1}$  (PDT). O comprimento médio

em centímetros de espiga foi determinado através de medidas da base até o ápice da espiga, com auxílio de fita métrica (COSTA et al., 2015).

Para a obtenção dos dados de crescimento e produtividade do milho foram colhidas 15 plantas de forma aleatória, na área útil da parcela (15 m<sup>2</sup> de área). Na determinação da matéria seca, as plantas de milho foram cortadas rente ao solo. Em seguida, o material vegetal foi picado, subamostrado e secado em estufa com aeração forçada a 55 °C, por 72 horas quando se atingiu a massa constante.

A produtividade foi obtida a partir da debulha manual e pesagem dos grãos, oriundos das espigas de 15 plantas coletadas aleatoriamente, na área útil de 15 m<sup>2</sup>, a qual foi convertida para kg ha<sup>-1</sup> e corrigida para 15% de umidade (b.u), utilizando-se o cálculo de produtividade do método Emater (EMATER-MG, 2000).

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste Tukey nível de significância de 5% de probabilidade, quando significativas pelo teste de F. Foi utilizado o software estatístico SISVAR 5.7 (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS

As características de crescimento do milho aos 8 e 30 DAS, foram influenciadas ( $P < 0,05$ ) pelas microbiolizações com EM e *Azospirillum brasilense* (Tabela 2). O uso do EM condicionou o incremento percentual na altura de plantas de 15% em relação ao controle, quando avaliado aos 8 DAS. Apenas o EM apresentou efeito no incremento da matéria fresca de 35,7% e matéria seca de 48%, quando comparada ao controle. Para o comprimento da raiz, foram observadas diferenças significativas com médias percentuais superiores ao controle, 18,3 % usando EM e 15,3% usando *A. brasilense*. Não verificou-se efeito das microbiolizações ( $p > 0,05$ ) para o diâmetro de colmo, entretanto, para a altura das plantas, quando microbiolizadas com EM, apresentaram incremento médio de 7,7% e com *A. brasilense* de 3%, comparado ao controle quando avaliado aos 30 DAS, desse modo o uso de micro-organismos eficazes foi mais eficiente na promoção do crescimento de plantas de milho, nestes estádios de desenvolvimento.

A altura de plantas e altura da inserção de espiga aos 60 DAS não foram afetadas ( $p > 0,05$ ) pelas inoculações. Para a característica diâmetro do colmo, verificou-se incremento percentual de 26,8% nas plantas microbiolizadas com *A. brasilense* e 19% com aplicação de EM, em comparação com o controle (Tabela 2). Não observou-se efeito significativo ( $p > 0,05$ ) da microbiolização com EM e *Azospirillum* para a altura de plantas avaliada aos 90 DAS. Verificou-se que o diâmetro do colmo (90 DAS) dos tratamentos microbiolizados com *Azospirillum* foram 10% inferiores em comparação com o controle, e o EM apresentou incremento de 7,85%. Contudo, nesta mesma época de avaliação o uso do *Azospirillum* condicionou as melhores médias em relação ao controle, com ganho percentual de 38,53 % na matéria fresca da parte aérea, 135,77% matéria fresca da raiz, 17,45% matéria seca parte aérea, 233,20% matéria seca da raiz e 5,67% comprimento raiz. Quando utilizado o EM verificou-se incremento de 8,40% na matéria fresca da parte aérea, 51,13% na matéria fresca da raiz, 17,74% matéria seca parte aérea, 70,67% para matéria seca da raiz e 3,70% comprimento raiz (Tabela 2 e Figura 1).

Nas avaliações de colheita (125 DAS), verifica-se na tabela 2, que não houve efeito ( $p > 0,05$ ) das microbiolizações para o diâmetro da espiga, comprimento de espiga, número de fileiras de grãos/espiga, massa de 1000 grãos, massa de grãos/espiga, diâmetro do sabugo e massa do sabugo. Observa-se um incremento percentual de 42% na média da matéria fresca parte aérea (MFPA) e 178% para matéria seca parte aérea (MSPA) após a aplicação de *A. brasilense* e um ganho percentual de 16% para MFPA e 18% para MSPA utilizando o EM. A matéria seca da raiz do milho inoculado com *A. brasilense* apresentou a média de 76% e o EM 51% superior ao controle (Figura 1).

**Tabela 2.** Médias de crescimento e produtividade de plantas de milho controle (não microbiolizadas), microbiolizadas com *Azospirillum brasilense* linhagens Ab-V5 e plantas microbiolizadas com micro-organismos eficazes (EM) na semente aos 8, 30, 60, 90 e 125 DAS.

| Tratamentos         | 8 DAS    |                            |          |          | 30 DAS   |           |
|---------------------|----------|----------------------------|----------|----------|----------|-----------|
|                     | AP (cm)  | CR (cm)                    | MF (g)   | MS (g)   | AP (m)   | DC (mm)   |
| <i>Azospirillum</i> | 14,6 b   | 19,5 a                     | 3,802 b  | 0,196 b  | 78,10 ab | 2,60 a    |
| EM                  | 16,7 a   | 20,0 a                     | 4,808 a  | 0,263 a  | 81,93 a  | 2,51 a    |
| Controle            | 14,5 b   | 16,9 b                     | 3,542 b  | 0,177 b  | 76,07 b  | 2,46 a    |
| CV %                | 16,1     | 7,68                       | 12,07    | 27,99    | 7,38     | 10,39     |
| Erro Padrão         | 0,633    | 0,372                      | 0,126    | 0,072    | 1,49     | 0,068     |
| Tratamentos         | 60 DAS   |                            |          | 90 DAS   |          |           |
|                     | AP (m)   | DC (mm)                    | AIE (cm) | AP (m)   | DC (mm)  | MFPA (g)  |
| <i>Azospirillum</i> | 2,62 a   | 2,46 a                     | 1,26 a   | 2,58 a   | 1,70 b   | 1085,57 a |
| EM                  | 2,60 a   | 2,32 ab                    | 1,28 a   | 2,69 a   | 2,06 a   | 848,77 b  |
| Controle            | 2,65 a   | 1,94 b                     | 1,32 a   | 2,64 a   | 1,91 ab  | 783,58 b  |
| CV %                | 5,44     | 13,71                      | 14,88    | 3,75     | 16,13    | 17,43     |
| Erro Padrão         | 0,063    | 0,13                       | 0,086    | 0,02     | 0,07     | 91,15     |
| Tratamentos         | 90 DAS   |                            |          |          | 125 DAS  |           |
|                     | MSPA (g) | MFR (g)                    | MSR (g)  | CR (cm)  | CE (cm)  | NFGE (un) |
| <i>Azospirillum</i> | 423,37 a | 257,93 a                   | 77,37 a  | 27,00 a  | 15,40 a  | 14,40 a   |
| EM                  | 424,39 a | 165,14 b                   | 39,63 b  | 25,67 a  | 15,12 a  | 14,00 a   |
| Controle            | 360,44 b | 109,27 b                   | 23,22 b  | 22,67 b  | 14,58 a  | 13,42 a   |
| CV %                | 22,35    | 35,34                      | 22       | 14,11    | 9,64     | 9,77      |
| Erro Padrão         | 30,02    | 36,2                       | 29,06    | 2,04     | 0,37     | 0,35      |
| Tratamentos         | 125 DAS  |                            |          |          |          |           |
|                     | MMG (g)  | PDT (kg ha <sup>-1</sup> ) | DE (mm)  | MGE (g)  | DS (mm)  | MS (g)    |
| <i>Azospirillum</i> | 339,51 a | 13836,2 a                  | 4,85 a   | 197,66 a | 2,37 a   | 31,44 a   |
| EM                  | 326,40 a | 12740,0 b                  | 4,65 a   | 182,00 a | 2,32 a   | 30,93 a   |
| Controle            | 328,81 a | 12646,2 b                  | 4,70 a   | 180,68 a | 2,34 a   | 30,23 a   |
| CV %                | 7,66     | 0,03                       | 5,11     | 16,07    | 9,28     | 27,33     |
| Erro Padrão         | 23,68    | 0,414                      | 0,06     | 7,84     | 0,05     | 2,20      |
| Tratamentos         | MFPA (g) | MSPA (g)                   | MFR (g)  | MSR (g)  | -        | -         |
| <i>Azospirillum</i> | 451,61 a | 176,02 a                   | 128,00 a | 38,99 a  | -        | -         |
| EM                  | 398,66 a | 201,34 a                   | 104,60 a | 33,28 a  | -        | -         |
| Controle            | 317,16 b | 145,46 b                   | 90,34 b  | 22,05 b  | -        | -         |
| CV %                | 23,50    | 21,31                      | 25,08    | 45,53    | -        | -         |
| Erro Padrão         | 40,9     | 16,60                      | 12,07    | 5,79     | -        | -         |

Altura de plantas (AP), comprimento da raiz (CR), matéria fresca (MF), matéria seca (MS), diâmetro do colmo (DC), altura de inserção de espiga (AIE), matéria fresca parte aérea (MFPA), matéria fresca da raiz (MFR), matéria seca parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR), comprimento da espiga (CE) número de fileiras de grãos por espiga (NFGE), massa de mil grãos (MMG), produtividade (PDT) kg ha<sup>-1</sup>, diâmetro de espiga (DE), massa de grãos/espiga (MGE), diâmetro do sabugo (DS), massa do sabugo (MS). Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.



**Figura 1.** Sistema radicular do híbrido BM 3063 (Biomatrix) microbiolizado nas sementes e avaliado aos 125 DAS: a) *Azospirillum brasilense*; b) Micro-organismos eficazes (EM); c) Controle (não microbiolizado).

## DISCUSSÃO

Os efeitos do uso de *Azospirillum* no crescimento do milho são amplamente averiguados em estudos científicos. Costa et al. (2015) verificaram que a aplicação de *A. brasilense* na semente e pulverizado via foliar no estágio V4, proporcionaram ganhos percentuais na altura de plantas de 9,5 e 16 %, para biomassa seca do colmo 49 e 6,75 % e biomassa seca da raiz 123 e 97 %, respectivamente. Lana et al. (2012) também verificaram incremento na biomassa da parte aérea em 7,2%, quando o milho foi inoculado com *Azospirillum*, entretanto, não observaram efeito na altura de plantas e na altura de inserção da primeira espiga. De acordo com Cassán et al. (2020), múltiplos são os mecanismos responsáveis pela promoção do crescimento vegetal promovido por bactérias do gênero *Azospirillum*, sendo a fixação do N, um dos primeiros estudados, entretanto, a ele está atribuído um aumento de 5 a 18% do N total observado em plantas inoculadas, sendo portanto, a influência do crescimento vegetal atribuído a outros mecanismos como a síntese de reguladores de crescimento como o AIA, o ABA, etileno, citocininas e giberelinas. Apesar dos benefícios atribuídos ao uso do *A. brasilense* no crescimento de plantas de milho, o efeito positivo do seu uso depende também das características genéticas de cada híbrido (LANA et al., 2012), o que explica o fato de que em alguns estudos a bactéria não tenha apresentado efeito promissor para algumas características como a altura de plantas no presente estudo.

As raízes são as principais estruturas modificadas pelo *Azospirillum* (DE-BASHAN et al., 2010), a síntese de AIA pela bactérias (Figura 1) promove maior desenvolvimento de raízes laterais, adventícias e dos pelos radiculares (CASSÁN et al., 2020), e por consequência aumenta a capacidade de absorção de água e nutrientes pelas plantas (COSTA et al., 2015) aumentando também sua biomassa (LANA et al., 2012).

Em pesquisa avaliando eficiência do EM em plantas de milho, Teixeira et al. (2017) verificaram ganho percentual para altura de plantas variando de 2,2 a 25%; comprimento da raiz de 32 a 71%; massa fresca da parte aérea de 54 a 144%; e massa fresca das raízes chegando a um ganho percentual de 199%, corroborando com este estudo. O incremento percentual observado quando o EM foi utilizado deve-se a presença de micro-organismos promotores do crescimento vegetal, fixadores biológicos de N e fotossintetizantes, estes micro-organismos utilizam a energia obtida da luz solar e do calor do solo para converter exsudatos do sistema radicular, a fração orgânica do solo e gases como amônia em materiais de construção de células como aminoácidos, ácidos nucleicos e açúcares, que são absorvidos diretamente pelas plantas promovendo seu crescimento (HIMAGINI et al., 2019).

Verificou-se que o inoculante comercial *A. brasilense* sobressaiu em relação ao EM e ao controle na maioria das avaliações a partir dos 60 DAS. O gênero *Azospirillum* é comprovadamente constituído por micro-organismos promotores do crescimento vegetal (MPCV), a eles estão atribuídos a síntese de fitormônios, como auxinas (CASSÁN et al., 2020), o que, possivelmente, proporcionou o maior desenvolvimento do sistema radicular, principalmente a abundância de raízes laterais (Figura 1), influenciando a produção de grãos, os fitormônios exercem funções fundamentais sobre o desenvolvimento da planta. A auxina é um dos hormônios observados em maior quantidade nas plantas, exerce papel principal no crescimento das raízes e parte aérea. As giberelinas são responsáveis pelo crescimento da planta, sendo indutora da germinação de sementes, no alongamento celular e as citocininas são fitormônios que exercem funções brandas nas plantas, sendo sua sinalização presente em cada aspecto do desenvolvimento (TAIZ et al., 2017).

O efeito da inoculação com *A. brasilense* no comprimento da espiga foi verificado por Costa et al. (2015), quando encontraram incrementos de 16% comparado ao controle, e o diâmetro do colmo a partir dos 60 DAS não foi afetado. Provavelmente a partir dos 60 DAS, a planta cessa seu crescimento vegetativo investindo recursos, água e nutrientes para a produção de grãos. Em sua pesquisa, Cunha et al. (2014) também não verificaram resposta na microbiolização para os parâmetros diâmetro de colmo, altura de inserção da espiga e altura de planta. Da mesma forma, Mumbanch et al., 2017 não observaram efeito da inoculação no diâmetro do colmo, entretanto, a altura de plantas foi influenciada pela inoculação com *Azospirillum*, quando associada ou não à adubação mineral nitrogenada. A eficiência da inoculação com *A. brasilense* depende de alguns fatores ambientais como, o solo, a microbiota do solo, o genótipo (híbrido) utilizado, a fertilização química, número de células viáveis por semente e estirpes utilizadas (QUADROS et al., 2014). Fatores estes que quando não favoráveis para a interação micro-organismo x planta, explicam a falta de resposta da planta a inoculação e a ausência de ganhos percentuais.

O *Azospirillum* também apresentou eficiência no incremento da produtividade em kg ha<sup>-1</sup>, sendo 9,4% superior ao controle. O uso de *A. brasilense* no aumento da produtividade de grãos em milho (kg ha<sup>-1</sup>), também foi reportado por Costa et al. (2015), pois, verificaram ganhos percentuais na massa de 1.000 grãos (12%) e produção de grãos (29%), em comparação às plantas não inoculadas. Por Szilagyi-Zecchin et al. (2017) a produtividade de grãos em kg ha<sup>-1</sup> elevou 20% quando utilizado o *Azospirillum* e por Lana et al. (2012), que verificaram elevação e 15,4% de ganho percentual na produtividade de grãos. Mumbach et al. (2017), também observaram efeito da inoculação do *Azospirillum* associado à adubação nitrogenada no comprimento da espiga, diâmetro da espiga, massa de mil grãos e produtividade de grãos. Oliveira et al. (2018) verificaram efeito de uma cepa de *A. brasilense* isolada de *Hymenachene amplexicaulis* inoculada na semente, com uso de N, proporcionou e verificaram aumento na produtividade de grãos de milho safra, atingindo 6819 kg ha<sup>-1</sup>.

A síntese de AIA, promovida pelo *Azospirillum* pode proporcionar o aumento do sistema radicular (Figura 1), que explorará maior área do solo, favorecendo a absorção de água e nutrientes, ajudando no bom desenvolvimento vegetal refletindo positivamente rendimento de grãos. Além disso, as bactérias promotoras de crescimento podem melhorar a conversão de fertilizantes nitrogenados (MARTINS et al., 2017). Assim como, a fixação biológica de N, associada à fertilização química pode ter contribuído com o maior teor de clorofila nas plantas (COSTA et al., 2015) e, por consequência, maior taxa fotossintética (GORDILLO-DELGADO et al., 2016; LOPEZ et al., 2019) e maior produtividade.

O EM, não condicionou o incremento na produtividade de grãos de milho em kg ha<sup>-1</sup>, entretanto, em pesquisa realizada por Teixeira et al. (2017), o uso do EM proporcionou ganhos percentuais de 20% na massa de espigas com grãos, 18% na massa de grãos e 16% na massa de mil grãos, contudo, não verificaram efeito na produção em toneladas por hectare. Cabe ressaltar que o teor de matéria orgânica do solo de 32,7 dm<sup>-3</sup> (Tabela 1) possivelmente influenciou nos resultados observados, disponibilizando nutrientes, melhorando as características



de aeração, retenção e armazenamento de água, além das propriedades físicas e químicas do solo, proporcionando uma boa CTC (8,6) e contribuindo para a sobrevivência da microbiota presente no solo (OLIVEIRA et al., 2018).

Desse modo, a microbiolização de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* é uma importante estratégia na busca por sistemas agrícolas mais sustentáveis (FUKAMI et al., 2016), de modo a minimizar os custos do produtor, com a utilização de fertilização química, bem como reduzir os impactos ambientais (MUMBACH et al., 2017; COSTA et al., 2015; HUNGRIA et al., 2011).

Considerando o destaque do EM no crescimento do milho e o efeito proeminente do *Azospirillum* a partir dos 60 DAS, sugerimos que estudos futuros possam avaliar o efeito combinado do EM e *A. brasilense*, de modo a explorar melhor os sistemas de coinoculação usando micro-organismos nativos e de baixo custo de obtenção.

## CONCLUSÃO

A aplicação do EM promoveu efeito positivo expressivo sobre o crescimento inicial do milho (8 DAS), influenciou a matéria fresca e seca do sistema radicular, comprimento da raiz e altura de plantas. No entanto, a aplicação do EM não diferiu do tratamento controle quanto à produtividade de grãos do milho. A inoculação com *Azospirillum brasilense* proporcionou maiores médias para as características de crescimento e foi superior quanto à produtividade de grãos do milho aos tratamentos controle e aplicação de EM.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Estadual de Goiás, Campus Sudoeste, pela disponibilização dos laboratórios e equipamentos usados nesta pesquisa. E ao produtor rural, senhor Guderio Jaciento, pela disponibilização da área e recursos para implementação do experimento em campo.

## REFERÊNCIAS

- ARMSTRONG, M.; TAYLOR, M. **Armstrong's Handbook of Human Resource Management**. 13 ed. London: Kogan Page, 2014. 440p.
- BONFIM, F. P. G.; HONÓRIO, I. C. G.; REIS I. L.; PEREIRA A. J.; SOUZA, D. B. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM**. Universidade Federal de Viçosa: Departamento de Fitotecnia, 2011. 32p.
- BOSSUYTA, J. S. I. X.; HENDRIX, P. F. Comparison of organic compounds in the particle-size fractions of earthworm casts and surrounding soil in humid Laos. Protection of soil carbon by micro aggregates within earthworm casts. **Soil Biology & Biochemistry**, v.37, p.251-258, 2005.
- 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.
- 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.
- CUNHA, F. N.; SILVA, N. F.; BASTOS, F. J. C.; CARVALHO, J. J.; MOURA, L. M. F.; TEIXEIRA, M. B.; ROCHA, A. C.; SOUCHIE, E. L. Efeito da *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no sudoeste goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.13, p.261-272, 2014.

DE-BASHAN, L. E.; HERNANDEZ, J. P.; NELSON, K. N.; BASHAN, Y.; MAIER, R.M. Growth of quailbush in acidic, metalliferous desert mine tailings: effect of *Azospirillum brasilense* Sp6 on biomass production and rhizosphere community structure. **Microbial Ecology**, v.60, p.915-927, 2010.

EMATER-MG. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais. **Regulamento do concurso estadual de produtividade de milho ano 2000/2001**. 11 p. Belo Horizonte, 2000. Disponível em: <<http://www.emater.mg.gov.br/>>.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Portal Embrapa solos 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/solos>>.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema de análise estatística por computador. **Ciência e agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAÚJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v.6, p.1-13, 2016.

GALINKIN, M. **Geoiás 2002**. Agência Ambiental de Goiás: Fundação CEBRAC: PNUMA:SEMARH-GO. Goiânia, 2003. 272 p.

GORDILLO-DELGADO, F.; MARÍN, E.; CALDERÓN, A. Effect of *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia unamae* Bacteria on Maize Photosynthetic Activity Evaluated Using the Photoacoustic Technique. **International Journal of Thermophysics**, v.37, p.1-11, 2016.

GUERRA, F. A. **Métodos de contagem microbiana**. Microbiologia de alimentos- métodos de contagem microbiana, Valença, 2016. p28.

HIMANGINI, J.; SOM, D.; PIYUSH, C.; MUNDRA, S. L. Role of Effective Microorganisms (EM) in Sustainable Agriculture. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.8, p.172-181, 2019.

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

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium spp.* and *Azospirillum brasilense*: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v.6, p.811-817, 2015.

JOHAN, S.; JESPER, M. Antifungal lactic acid bacteria as bio preservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v.1, p.70-78, 2005.

JUSOH, M. L.; MANAF, L. A.; LATIFF, P. A. Composting of rice straw with effective microorganisms (EM) and its influence on compost quality. **Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v.10, p.2-9, 2013.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in *maize*. **Revista Ceres**, v.59, p.399-405, 2012.

LOPEZ, B. R.; PALACIOS, O. A.; BASHAN, Y.; HERNANDEZ-SANDOVAL, F. E.; DE-BASHAN, L. E. Riboflavin and lumichrome exuded by the bacterium *Azospirillum brasilense* promote growth and changes in metabolites in *Chlorella sorokiniana* under autotrophic conditions. **Algal Research**, v. 44, p.1-8, 2019.

MARTINS, M. R.; JANTALIA, C. P.; REIS, V. M.; DOWICH, I.; POLIDORO, J. C.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Impacto f plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea-15 N recovery by maize. **Plant Soil**, v.422, p.239–250, 2017.

- MILANI, R.; SANTOS, R. M.; BENTES, L. L.; KANDASAMY, S.; LAZAROVITS, G.; RIGOBELLO, E. C. *Bacillus subtilis* isolates with different abilities to promote plant growth in maize, cotton, and soybean crops. **Asian Journal of Microbiology, Biotechnology And Environmental Science**, v.21, p.5-14, 2019.
- MOWA, E.; MAASS, E. The effect of sulphuric acid and effective microorganisms on the seed germination of *Harpagophytum procumbens* (devil's claw). **South African Journal of Botany**, v.83, p.193-199, 2012.
- MUMBACH, G. L.; KOTOWSKI, I E.; SCHNEIDER, F. J. A.; MALLMANN, M. S.; BONFADA, E. B.; PORTELA, V. O.; BONFADA, E. B.; KAISER, D. R. Resposta da inoculação com *Azospirillum brasilense* nas culturas de trigo e de milho safrinha. **Scientia Agraria**, v.18. p.97-103, 2017.
- NOGUEIRA, M. A.; PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; CONTE, O.; HARGER, N.; OLIVEIRA, F. T.; HUNGRIA, M. **Ações de transferência de tecnologia em inoculação/coinoculação com Bradyrhizobium e Azospirillum na cultura da soja na safra 2017/18 no estado do Paraná**. EMBRAPA Soja, p.15 (Embrapa Soja. Circular Técnica,143), 2018.
- OLIVEIRA, R. P.; LIMA, S. F.; ALVAREZ, R. C. F.; BALDANI, V. L. D.; OLIVEIRA, M. P.; BRASIL, M. S. *Azospirillum brasilense* inoculation and management of fertilizer nitrogen in maize. **Brazilian Journal of Agriculture**, v.93, p.347-361, 2018.
- PANTANO, G.; GROSSELI, G. M.; MOZETO, A. A.; FADINI, P. S. Sustentabilidade no uso do fósforo: uma questão de segurança hídrica e alimentar. **Química Nova**, v.39, p.732-740, 2016.
- QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agrônomo a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v.61, p.209-218, 2014.
- RIBEIRO, M. L. D. S.; PORTO, L. S.; ROCHA, A. F. S.; COSTA, R. R. G. F. Inoculação e coinoculação da soja com *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brasilense* e microrganismos eficazes. **Revista Mirante**, v.13, p.66-80, 2020.
- SAATH, K. C. O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista Economia Sociologia Rural**, v.56, p.195-212, 2018.
- SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; MARRIEL, I. E.; SILVA, P. R. F. Produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio cultivado em campo no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v.40, p.110-119, 2017.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6º ed. Porto Alegre: Artmed, 2017, 858p.
- TEIXEIRA, N. T.; WITT, L.; SILVA FILHO, P. R. R. Microrganismos de regeneração nas propriedades químicas do solo, desenvolvimento e produção de milho. **Engenharia Ambiental: pesquisa e tecnologia**, v.14, p.72-80, 2017.
- VALLS, M.; LORENZO, V. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. **FEMS Microbiol Reviews**, v.26, p.327-338, 2002.
- VAXEVANIDOU, K.; CHRISTOU, C.; KREMYDAS, G. F. GEORGAKOPOULOS, D. G.; PAPASSIOPI, N. Role of indigenous arsenate and iron (III) Respiring microorganisms in controlling the mobilization of arsenic in a Contaminated soil Sample. **Bull Environ Cont Toxicol**, v.94, p.282-288, 2015.