

BIOMASSA DE MILHO PARA SILAGEM SUBMETIDO À INOCULAÇÃO DE *Beauveria bassiana* EM DIFERENTES REGIMES DE IRRIGAÇÃO

ARIANE HATSUE SAITO¹; EVELYN FERNANDES¹; THIAGO ANTÔNIO
LONCAROVICH GOMES¹; ALEXANDRE DE MOURA GUIMARÃES²; SUSI MEIRE
MAXIMINO LEITE²

¹ Discente em Mecanização em Agricultura de Precisão na FATEC Pompeia “Shunji Nishimura”,
Pompeia-SP, ariane.saito@fatec.sp.gov.br.

¹ Discente em Mecanização em Agricultura de Precisão na FATEC Pompeia “Shunji Nishimura”,
Pompeia-SP, evelyn.fernandes2@fatec.sp.gov.br.

¹ Discente em Mecanização em Agricultura de Precisão na FATEC Pompeia “Shunji Nishimura”,
Pompeia-SP, thiago.gomes30@fatec.sp.gov.br.

² Docentes do curso Mecanização em Agricultura de Precisão, FATEC Pompeia, Pompeia-SP.

RESUMO: O milho é um dos cereais mais cultivados no mundo e por ser semeado na época do inverno, entende-se que haverá limitações quanto as condições climáticas para o seu desenvolvimento. Estudos demonstram a eficiência da utilização de fungos entomopatogênicos em associação simbiótica a culturas agrícolas na tolerância ao estresse hídrico. Sendo assim, o presente trabalho visou estudar a associação de *Beauveria bassiana* em diferentes doses e sistemas de irrigação com a cultura do milho em função da possível redução dos efeitos do estresse hídrico. O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado, em esquema fatorial de 2 x 4 (4 doses de *B. bassiana* e 2 sistemas de irrigação), analisando as variáveis altura de planta, diâmetro de colmo e massa seca da parte aérea. Com os resultados analisados, foi possível concluir que não houve interação significativa entre o sistema de irrigação e a inoculação de *B. bassiana* nas variáveis biométricas avaliadas, nas condições em que este experimento foi conduzido, assim como não se observou efeito da inoculação do fungo entomopatogênico nestas variáveis. A redução da taxa de irrigação levou a redução significativa das variáveis analisadas.

Palavras-chave: Biometria. Estresse hídrico. Fungo Entomopatogênico.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) está entre os cereais mais cultivados no Brasil. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), na safra 2022/23, estima-se cerca de 22.267,4 mil hectares de área plantada de milho produzindo aproximadamente 131.865,9 mil toneladas de grãos. A sua utilização tem por finalidade alimentação animal em rações ou silagem, alimentação humana e produção de óleo vegetal.

A silagem é composta de forragens úmidas que são conservadas em ambiente anaeróbico e que formam um alimento energético com a finalidade de suplementar a alimentação de animais ruminantes durante o inverno, podendo-se produzir 3 tipos de silagem de milho, sendo elas de planta inteira, da espiga ou de grão úmido (ANTUNES, 2018).

O cultivo da cultura do milho tem sido limitado devido suas exigências climáticas. Fatores abióticos como água, temperatura e radiação solar são limitantes para seu desenvolvimento, pois seu cultivo em grande parte é no período de inverno, estação pouco chuvosa e com menor fotoperíodo. Para que atinja seu potencial de produção, espera-se temperaturas entre 24° a 30°C, exigência térmica de 890 a 1200 graus-dias (GD) e exigência hídrica de aproximadamente 600 mm durante o ciclo (CRUZ et al., 2006). Em qualquer momento durante o seu ciclo de crescimento, a planta é altamente sensível à deficiência hídrica, causando perdas significativas em seu crescimento vegetativo e na sua produtividade (RUFINO et al., 2018).

O fenômeno de mudanças climáticas gera efeitos negativos nas lavouras brasileiras. Segundo estudos da Embrapa (2011), no ano de 2070 as perdas de grãos serão de aproximadamente R\$ 14 bilhões. Sabendo-se dos efeitos das mudanças climáticas, cada vez mais se discute sobre seus impactos na agricultura brasileira incluindo no cultivo do milho (DUARTE, 2023). Soluções ambientalmente corretas e possivelmente de baixo custo, são cada vez mais procuradas pelos produtores para atenuar os efeitos do estresse hídrico. Dentre estas soluções pode-se citar o melhoramento genético e uso de fungos e bactérias para minimizar os danos da seca em diversas culturas e diminuir a dependência de fertilizantes agrícolas (CARVALHO, 2019).

Os fungos entomopatogênicos colaboram para o aumento do sistema radicular das plantas através de sua extensa rede de hifas que auxiliam as raízes na exploração de solos compactados na busca por nutrientes e água (MATHUR et al., 2018). Sendo assim, estes microrganismos contribuem para que as plantas suportem situações adversas como estresses abióticos ou bióticos, por conta da sua associação simbiótica (SANTANA, 2021).

Estudos comprovam que na cultura da soja há um potencial de mitigação ao estresse hídrico quando associada a simbiose dos fungos *Beuveria bassiana*, porém sabe-se que em condições plenas de irrigação o potencial de rendimento de massa de grãos por planta pode ser afetado negativamente (GUNDIM, 2022).

Tendo em vista a relevância do estudo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da inoculação de *Beauveria bassiana* e a adoção de dois diferentes regimes de irrigação sobre a formação de biomassa em milho utilizado para silagem.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em casa de vegetação na Fazenda Experimental da Fatec Shunji Nishimura de Pompeia-SP, utilizando vasos de 25 litros de capacidade e sementes de milho híbrido da variedade AG 7098 Trecepta, de ciclo precoce, da Empresa Agrocere.

O substrato foi composto de uma mistura de 50% de terra vermelha e 50% de areia grossa. Esta mistura foi homogeneizada e submetida a expurgo de possíveis pragas e patógenos através de um tratamento térmico, utilizando-se chapa aquecida e geração de vapor.

Foram coletadas 2 amostras do substrato, uma antes e uma depois do tratamento térmico e estas foram enviadas ao Laboratório de Solos da Fundação Shunji Nishimura de Tecnologias para serem analisadas quimicamente. Os resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1: Resultado das análises de solo antes e depois do expurgo.

Nº de amostra Interessado	----- pH -----		g/dm³	mg/dm³		----- mmolc/dm³ -----								----- mg/dm³ -----				
	CaCl₂	H₂O	MO	P	S	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V%	Fe	Mn	Zn	Cu	B
ANTES	7,5	8,0	12	149	66	13,8	90	26	0	15	130	145	90	12	15,8	3,4	1,0	1,0
DEPOIS	6,9	7,4	8	145	40	10,0	74	22	0	9	106	115	92	16	22,0	3,5	1,0	1,2

Fonte: Laboratório de Análise de Solos da Fundação Shunji Nishimura de Tecnologias, 2023.

Os vasos antes de adicionar o solo, receberam um recorte de tecido não tecido (TNT), evitando escoamento do solo pelos drenos dos vasos. Após a primeira irrigação dos vasos, estes receberam 3 sementes cada em covas individuais, a uma profundidade de aproximadamente 2,0 cm.

A fim de evitar problemas da germinação das sementes, inicialmente todos os vasos receberam irrigação até a capacidade de campo. Após a germinação, 10 dias após a semeadura, foram deixadas apenas duas melhores plantas por vaso. A ideia de manter duas plantas por vaso foi para aumentar a competição por nutrientes e água para evidenciar possíveis benefícios da associação com *Beauveria bassiana*.

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado, em esquema fatorial de 2 x 4 (4 doses de inoculação com *Beauveria bassiana*, 0, 1,2 x10¹¹ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) ha⁻¹, 1,2 x 10²² UFC ha⁻¹e 1,2 x 10³³ UFC

ha⁻¹; e dois regimes de irrigação 100 e 50% da irrigação necessária para a capacidade de campo), resultando em 8 tratamentos com 5 repetições cada, totalizando 40 parcelas.

A inoculação dos vasos com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* foi realizada 08 dias após a germinação adotando-se um volume de calda equivalente à 200 L ha⁻¹ que, considerando-se o diâmetro dos vasos, resultou na aplicação de 5 mL de solução de UFC diluídas em água destilada e Tween 80 à 0,1% em cada vaso.

Para a aplicação utilizou-se uma seringa volumétrica direcionando a aplicação no substrato próximo ao caule das plantas, tomando-se o cuidado de agitar constantemente a solução para realizar a aplicação e realizar a lavagem da seringa a cada mudança de dosagem (Figura 1).

Figura 1- Aplicação das soluções de *Beauveria bassiana* próximo ao caule das plantas utilizando seringa volumétrica.



Fonte: autores, 2023.

Cerca de 15 dias após a inoculação iniciou-se a avaliação de altura total de plantas e diâmetro das duas plantas de cada vaso. Esta medição se repetiu a cada 15 dias em média, resultando em 3 medições ao longo do experimento.

Aos 49 dias após a inoculação o experimento foi encerrado realizando-se o corte da parte aérea das plantas. Estas foram acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados e levados à estufa de circulação forçada em temperatura

de 60°C até peso constante para determinação da biomassa na forma de massa seca da parte aérea (MSPA).

Os dados biométricos foram submetidos à testes de homogeneidade (Levene) pelo software Jamovi versão 2.3.38 (THE JAMOVIPROJECT, 2023), normalidade Shapiro Wilk., análise de variância e teste de médias Scott Knott à 5% de significância pelo software estatístico SISVAR versão 5.8 (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento térmico a fim de expurgar o substrato a ser utilizado resultou em pequena variação de pH e uma alteração um pouco mais significativa no teor de matéria orgânica das amostras (Tabela 1), mas o substrato ainda manteve boas características de fertilidade geral, não havendo necessidade de correções dele.

Em solos tropicais e subtropicais, a matéria orgânica do solo tem grande importância para o fornecimento de nutrientes às culturas, favorecendo também a retenção de cátions, à complexação de elementos tóxicos e de micronutrientes, propiciando melhorias na agregação do solo, no fluxo da água, na aeração e à atividade biológica (BAYER E MIELNICZUK, 2008).

Como pode ser observado na Tabela 2, os testes de Shapiro Wilk e Levene demonstrou haver homogeneidade das variâncias e falta de normalidade dos dados, levando a necessidade de adoção de testes não paramétricos ou transformação de dados. Devido ao delineamento do experimento em fatorial, optou-se pela transformação dos dados utilizando-se a equação $\sqrt{x + 0,5}$ e a aplicação do teste de médias e análise de variância.

Tabela 2: Resultado das análises de homogeneidade das variâncias e testes de normalidade à 5% de significância.

Tratamento	Variável	Teste de Levene*	Teste de Shapiro Wilk*
<i>Beauveria bassiana</i>	Diâmetro	0.386	0.002
	Altura	0.302	0.040
	MSPA	0.125	0.002
Irrigação	Diâmetro	0.193	< .001
	Altura	0.005	0.778
	MSPA	< .001	0.078

*Nota: valores de *p-value* dos testes aplicados.

Embora o experimento tenha sido bem controlado, o que é demonstrado pelos baixos Coeficientes de Variação (CV%) apresentados na Tabela 3, não foi detectada interação entre a aplicação de *Beauveria bassiana* e diferentes taxas de irrigação, em nenhuma das doses testadas, nas variáveis analisadas. Diferentemente dos estudos realizados por Gundim (2022), comprovando-se que para a cultura da soja a utilização dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metharizium anisopliae* possibilitaram o efeito da mitigação do estresse hídrico em diferentes regimes de irrigação, sendo os melhores resultados significativos apresentados com a *Beauveria bassiana*.

Outro exemplo estudado na dissertação de Santana (2021), onde utilizou-se fungos micorrízico arbusculares (FMA) em associação ao milho para aumentar a tolerância ao estresse hídrico, obtendo-se resultados relevantes em relação aos tratamentos e os regimes de irrigação.

O solo constitui um importante reservatório para diversidade de fungos entomopatogênicos, a liberação de células da planta gera a interação planta-microrganismos, estimulando o crescimento microbiano. Há diversos fatores como a localização geográfica, clima, habitat, altitude, pH do solo, quantidade de matéria orgânica impactam a presença das espécies fúngicas e a resposta de cada espécie a estas condições (MEDO E CAGÁN, 2011).

A falta do efeito da inoculação de diferentes doses de *Beauveria bassiana* neste experimento pode ter se dado por diferentes razões, como por exemplo, uma onda de calor fora do normal que ocorreu alguns dias após a aplicação do microrganismo no

solo, redução da matéria orgânica no solo, falta de efeito benéfico realmente do fungo em relação à planta ou alguma incompatibilidade inerente ao material genético de ambos, planta e fungo, utilizados. Um primeiro passo para se determinar a real causa da falta de efeito seria a investigação, por microscopia, se houve realmente associação do fungo com a planta, necessária para que se pudesse ter o benefício da inoculação.

A variação da taxa de irrigação afetou as três variáveis biométricas avaliadas, sendo que a taxa de 100% levou a acréscimo significativo da altura total de plantas, diâmetro e MSPA. A irrigação com taxa de 100% proporcionou um acréscimo de 104% no diâmetro de plantas, 34% na altura de plantas e de 85% na MSPA, comprovando a importância do fornecimento adequado de água para que as plantas possam expressar seu potencial genético (Tabela 3). No caso de silagem, a produção de massa é essencial, pois é o produto a ser obtido. Apesar da resposta em incremento em massa evidente neste experimento, Martin et al. (2012) ressaltam a importância de fazer uma análise de custo-benefício do volume de água a ser oferecido às culturas para contornar a escassez dos recursos hídricos, sugerindo o processo de irrigação deficitária, uma vez que esta não afetou a qualidade da silagem, apesar de afetar sua produtividade.

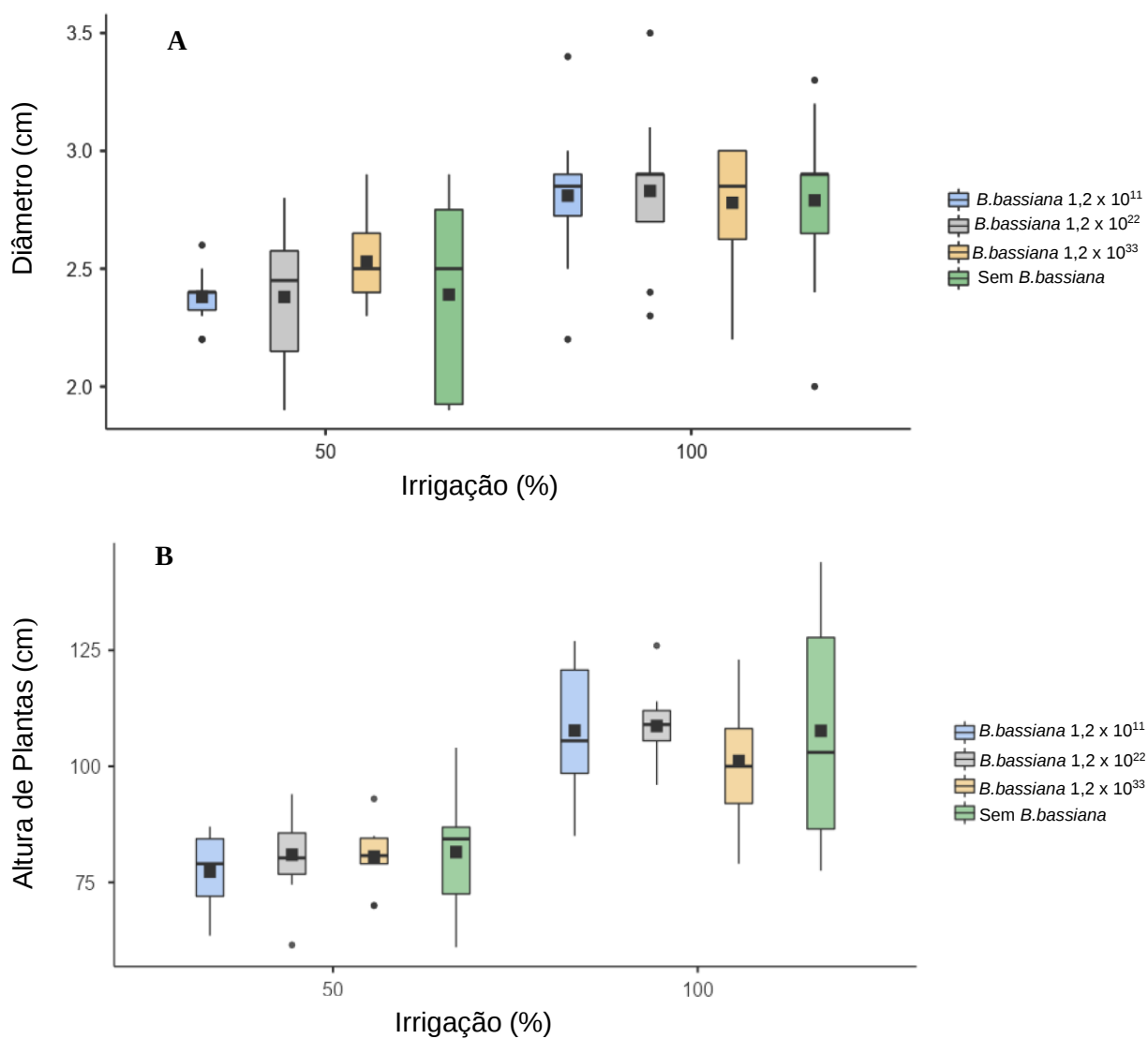
Tabela 3: Resultados obtidos através do teste de média dos dados biométricos adquiridos no experimento de milho para silagem submetidos a diferentes tratamentos de irrigação e doses de aplicação de *Beauveria bassiana*.

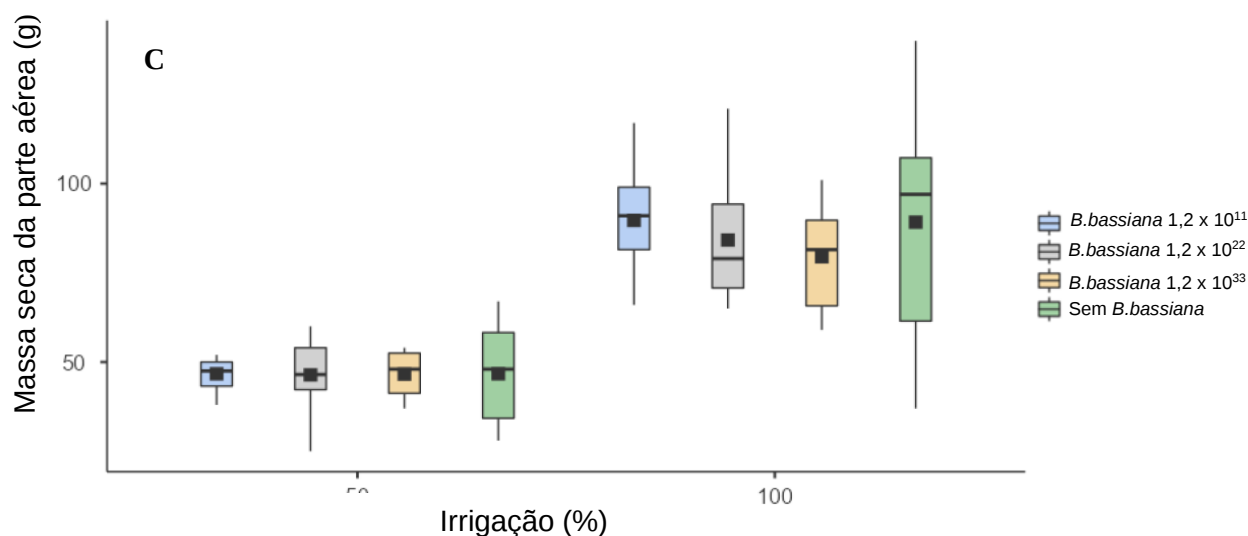
Irrigação(%)	<i>B.bassiana</i>	Diâmetro(cm)	Altura (cm)	MSPA (g)
50	0	2,39	81,52	46,70
	1,2 x 10 ¹¹	2,38	77,30	46,70
	1,2 x 10 ²²	2,38	80,95	46,40
	1,2 x 10 ³³	2,53	80,55	46,60
Média		2,42 a	80,08 a	46,60 a
100	0	2,79	107,65	89,20
	1,2 x 10 ¹¹	2,81	107,70	89,70
	1,2 x 10 ²²	2,83	108,70	84,20
	1,2 x 10 ³³	2,78	101,15	79,50
Média		2,75 b	106,30 b	85,65 b
CV%		4,94	6,94	25,86

Nota: Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si quanto aos tratamentos de Irrigação ao nível de 1% de significância.

A figura 2 (1-A, 1-B e 1-C) mostram as medianas e desvio padrão da média-mediana considerando-se apenas os dados quanto às diferentes taxas de irrigação, comprovando que o tratamento com restrição de fornecimento de água realmente estava afetando as plantas, uma vez que estas diferenças foram significativas à nível de 1% (Tabela 3).

Figura 2: Box Plot dos dados biométricos de **A-** diâmetro de colmo (cm), **B-** altura de plantas (cm) e **C-** MSPA obtidos no experimento de milho para silagem submetidos a dois sistemas de irrigação e doses de aplicação de *Beauveria bassiana*.





O déficit hídrico é definido como uma condição de suprimento inadequado de água nas plantas devido à disponibilidade limitada de água que resulta em efeitos prejudiciais nas plantas, portanto, este afeta negativamente os processos fisiológicos e bioquímicos causando decréscimo no turgor das células, imprescindível para o adequado metabolismo celular, como fotossíntese, atividade enzimática e absorção de nutrientes (FLORES et al., 2020). Estes efeitos do estresse hídrico poderiam ser parcialmente mitigados pela associação da *Beauveria bassiana*, o que não ocorreu neste caso. Portanto, os presentes autores sugerem mais estudos envolvendo outras cultivares de milho e com outras cepas deste fungo que possam exercer esta simbiose benéfica para contestar os presentes resultados, assim como uma investigação microscópica sobre a possível instalação ou não do fungo com as plantas inoculadas.

CONCLUSÕES

Não foi possível verificar interação significativa entre o sistema de irrigação e a inoculação de *B. bassiana* nas variáveis biométricas avaliadas, nas condições em que este experimento foi conduzido, assim como não se observou efeito da inoculação do fungo entomopatogênico nestas variáveis. A redução da taxa de irrigação levou a redução significativa das variáveis analisadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Biológico de Campinas, na pessoa do pesquisador Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida, pela doação dos esporos de *Beauveria bassiana* para a condução do experimento.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, J.M. **Silagem para suprir a escassez de pasto**. Embrapa, 2018. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/34247153/silagem-para-suprir-a-escassez-de-pasto#:~:text=O%20milho%20permite%20produzir%20tr%C3%AAs,espiga%20e%20do%20gr%C3%A3o%20%C3%BAmido> >. Acesso em: 25/10/2023.

BAYER, C., MIELNICZUK, J., Dinâmica e função da matéria. IN: SANTOS, G. A., SILVA, L. S., CANELLAS, L. P., CAMARGO, F. A. O. (Ed). **Fundamentos da matéria orgânicas: ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2 ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008. Disponível em: < <https://tede.ufrj.br/jspui/bitstream/jspui/1233/2/2011%20-%20Arcangelo%20Loss.pdf> >. Acesso em: 28/10/2023.

CARVALHO, C. G., et al. **Efeitos de bactérias promotoras de crescimento em plântulas de milho sob estresse hídrico induzido por polietilenoglicol 6000**. 2019. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1117338/1/bol196.pdf> >. Acesso em: 11/10/2023.

CRUZ, J.C., et al. **MANEJO DA CULTURA DO MILHO**. Embrapa, 2006. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/490419/1/Circ87.pdf> >. Acesso em: 02/10/2023.

DUARTE, Y. C. N. **Impacto das mudanças climáticas no Brasil e sua influência no cultivo e na produtividade do milho: uma abordagem multi-modelos**. 2023. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Disponível em: < <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11152/tde-11042023-164804/pt-br.php> >. Acesso em: 11/10/2023.

FERREIRA, D.F. (2019). SISVAR: UM SISTEMA DE ANÁLISE COMPUTADORIZADA PARA EFEITOS FIXOS DESENHOS TIPO PLOT PLOT: Sisvar. *Brazilian Journal of Biometrics*, 37 (4), 529–535. Disponível em: < <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450> >. Acesso em: 07 maio 2022.

FLORES, C. et al. **SALINITY AND WATER DEFICIT**. The Genus Citrus, In: MANUEL, T.; MARCO, C.; FRED, G. (Eds.). The genus citrus. Amsterdam: Elsevier, 2020. p.291-309. Disponível em: < <https://agritrop.cirad.fr/597504/> >. Acesso em: 11/10/2023.

GONDIM, R.S., et al. **MUDANÇAS CLIMÁTICAS E AGRICULTURA**. Embrapa, 2011. Disponível em: <

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/165085/1/CLV17010.pdf> >. Acesso em: 14/10/2023.

GUNDIM, A.S. **POTENCIAL DE MITIGAÇÃO DE PERDAS POR DÉFICIT HÍDRICO NA CULTURA DA SOJA PELA APLICAÇÃO DOS FUNGOS BEAUVERIA BASSIANA E METARHIZIUM ANISOPLIAE NO SULCO DE PLANTIO**, 2022. Disponível em: < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11152/tde-12082022-093509/publico/Alice_da_Silva_Gundim_versao_revisada.pdf >. Acesso em: 04/09/2023.

The jamoviproject (2021). jamovi. (Version 1.6) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>

MATHUR, S.; SHARMA, M.P.; JAJOO, A. **IMPROVED PHOTOSYNTHETIC EFFICACY OF MAIZE (ZEA MAYS) PLANTS WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI (AMF) UNDER HIGH TEMPERATURE STRESS**. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v. 180, p. 149–154, 2018. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29425887/> >. Acesso em: 11/10/2023.

MEDO, JURAJ & CAGÁŇ, ĽUDOVÍT. (2011). **FACTORS AFFECTING THE OCCURRENCE OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI IN SOILS OF SLOVAKIA AS REVEALED USING TWO METHODS**. BIOLOGICAL CONTROL - BIOL CONTROL. 59. 200-208. 10.1016/j.biocontrol.2011.07.020. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/251638052_Factors_affecting_the_occurrence_of_entomopathogenic_fungi_in_soils_of_Slovakia_as_revealed_using_two_methods > Acesso em: 28/10/2023.

SANTANA, L.R., et al. **FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASSOCIADOS COM PLANTAS DE MILHO: uma estratégia biotecnológica durante a seca**. 2021. Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias – Agronomia – Instituto federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, 25/10/2021. Disponível em: < <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/2157/3/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20LETICIA%20VERS%C3%83O%20FINAL.pdf> >. Acesso em: 11/10/2023.

S.I. **ACOMPANHAMENTO DE SAFRA BRASILEIRA: Grãos safra 2022/2023**. Conab, 2023. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos> >. Acesso em: 02/10/2023.

RUFINO, A.C., et al. **WATER STRESS INFLUENCE ON THE VEGETATIVE PERIOD YIELD COMPONENTS OF DIFFERENT MAIZE GENOTYPES**. Agronomy, v.8, n.8, p.19, 2018. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/2073-4395/8/8/151> >. Acesso em: 11/10/2023.

MARTIN, J. D.; CARLESSO, R.; AIRES, N. P.; GATTO, J. C.; DUBOU, V.; FRIES, H. M.; SCHEIBLER, R. B. **IRRIGAÇÃO DEFICITÁRIA PARA AUMENTAR A PRODUTIVIDADE DA ÁGUA NA PRODUÇÃO DE SILAGEM DE MILHO**. IRRIGA, [S. l.], v. 1, n. 01, p. 192–205, 2012. DOI: 10.15809/irriga.2012v1n01p192. Disponível em:

<<https://energia.fca.unesp.br/index.php/irriga/article/view/447>>. Acesso em: 30 out. 2023.