

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOMÉTRICOS DO MILHO INOCULADO COM *AZOSPIRILLUM* E *METARHIZIUM* NO SULCO E NA SEMENTE

BÁRBARA RAYSSA SILVA ANJOS¹; FABIANO ONÓRIO DE OLIVEIRA¹; MATHEUS HANIEL MACHADO NUNES¹; SUSI MEIRE MAXIMINO LEITE²; ALEXANDRE DE MOURA GUIMARÃES².

¹ Discente em Mecanização em Agricultura de Precisão na FATEC Pompeia "Shunji Nishimura", Pompeia-SP, barbara.anjos01@fatec.sp.gov.br

¹ Discente em Mecanização em Agricultura de Precisão na FATEC Pompeia "Shunji Nishimura", Pompeia-SP, fabiano.oliveira26@fatec.sp.gov.br

¹ Discente em Mecanização em Agricultura de Precisão na FATEC Pompeia "Shunji Nishimura", Pompeia-SP, matheus.nunes11@fatec.sp.gov.br

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

RESUMO: O uso de inoculantes na cultura do milho tem sido cada vez mais valorizado, em vista dos benefícios que pode trazer. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da inoculação do *Azospirillum brasilense* e *Metarhizium anisopliae* sobre parâmetros biométricos e desenvolvimento de sementes nesta cultura. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, totalizando 7 tratamentos, cada tratamento com 6 repetições, o que resultou no total de 42 parcelas. Os tratamentos consistiram em testemunha e da adição de inoculante *Azospirillum brasilense* e/ou *Metarhizium anisopliae* em duas formas de aplicação, sulco de plantio e tratamento de semente. As médias das variáveis foram diâmetro, altura, massa seca foliar (MSF), massa seca colmo (MSC), massa seca raiz (MSR) e massa de 50 sementes. Pelos resultados obtidos foi possível concluir que as características avaliadas variaram de modo diferenciado entre os tratamentos, não destacando nenhum tratamento específico.

Palavras-chave: Bioestimulante, Inoculante, Curva de crescimento.

INTRODUÇÃO

O milho assume um relevante papel socioeconômico por ser um dos principais cereais cultivados no mundo, sendo utilizado na alimentação humana, animal além de ser matéria prima para o mercado agrícola de produtos não alimentícios, como o de biocombustíveis. Devido sua importância, tanto na alimentação humana e animal como para outros fins, essa cultura tornou-se uma das culturas mais estudadas do ponto de vista nutricional e de manejo, com o objetivo de se alcançar rendimentos

máximos de cultivos e com qualidade para obter um processo mais produtivo e menos danoso (FANCELI; DOURADO NETO, 2008).

O uso de inoculantes na cultura do milho tem sido cada vez mais valorizado, em vista dos benefícios que pode trazer à cultura (QUADROS *et al.*, 2014). Nos últimos 20 anos foram descobertas as potencialidades das bactérias diazotróficas microaeróbias, do gênero *Azospirillum*, fixadoras de nitrogênio atmosférico, quando em vida livre (BODDEY; DÖBEREINER, 1995). Estas, quando associadas à rizosfera das plantas podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada dessas plantas, o que tem despertado grande interesse por parte de pesquisadores em biologia e fertilidade do solo. Segundo Okon e Vanderleyden (1997), a otimização dessa possível simbiose *Azospirillum* spp - Milho poderá resultar em incrementos de produtividade e em diminuição dos custos de produção, principalmente da aquisição de adubos nitrogenados que são usados intensamente na cultura do milho.

O uso de biostimulantes tem crescido nos últimos anos e aumentado a produtividade de culturas importantes, como o milho (OLIVEIRA, 2020). Os biostimulantes são produtos derivados de compostos orgânicos naturais ou de microrganismos, capazes de atuar diretamente no metabolismo das plantas, melhorar processos fisiológicos, contribuir para a absorção de nutrientes, induzir resistência aos estresses bióticos e abióticos e aumentar a produtividade (OLAETXEA *et al.* 2015; CANELLAS *et al.* 2015; HALPERN *et al.* 2015; YAKHIN *et al.* 2017; VAN OOSTEN *et al.* 2017, citados por OLIVEIRA, 2020). Além de atuarem de forma direta, promovem outros benefícios às culturas de forma indireta melhorando a estrutura do solo, reduzindo sua compactação, garantindo mais carbono no solo e ainda contribuem na manutenção da microbiota da rizosfera (PASCALE *et al.* 2017, citado por OLIVEIRA, 2020).

Em agroecossistemas os fungos representam cerca de 80% das doenças que ocorrem naturalmente em insetos, ocupando um lugar de relevada importância na manutenção do equilíbrio ecológico. Dentre esses, o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch), Sorokin destaca-se por ser patogênico a muitas espécies de insetos, podendo afetar mais de 300 espécies (ALVES, 1998).

A utilização de práticas como o controle biológico tem sido vista como uma grande alternativa ao agricultor pois, diminui os custos gerando o mesmo volume de produção, mantendo a qualidade do produto e a integridade do ambiente e do agricultor uma vez que se reduz ou não se utiliza agrotóxicos químicos. Estes produtos

químicos usados no controle de insetos são tóxicos ao homem, aos animais e ao meio ambiente, além de diminuir o controle de pragas por inimigos naturais (ALVES, 1998). Diante disso, buscou-se mitigar o problema com a utilização do “manejo integrado de pragas” (MIP), surgido na década de 1970. Um dos métodos amplamente utilizados nesse manejo é o uso de fungos entomopatogênicos (GUGINSKI; LUCKMANN; SILVA, 2011). Trabalhos recentes têm mostrado a possível multifuncionalidade do *Metarhizium spp*, apresentando efeito estimulante de crescimento em tomateiro, abrindo a possibilidade de efeito biofertilizante sobre as plantas (EMBRAPA, 2021; AMANDIO, 2022).

Devido a relevância do assunto o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da inoculação do *Azospirillum brasilense* e *Metarhizium anisopliae*, inoculados via semente ou no sulco de plantio, sobre parâmetros biométricos e a produtividade da cultura do milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na área de cultivo protegido da Faculdade de Tecnologia Shunji Nishimura – Pompeia, São Paulo, em vasos de 25 L de capacidade, sendo a variedade de milho utilizada foi a HÍBRIDO SIMPLES – Modificado – HSM de ciclo precoce da Empresa Sementes Caraíba.

Como substrato foi utilizado uma mistura de uma porção de areia grossa uma porção de areia fina e uma porção de solo. Esta mistura foi tratada em chapa quente por 10 minutos, com adição recorrente de água para geração de vapor com o objetivo de controlar possíveis pragas e doenças de solo (Figura 1).

Figura 1- Processo utilizado para expurgar o substrato utilizado nos vasos do experimento antes da semeadura.



Fonte: Autor

Após o expurgo do substrato, este foi deixado por 24 horas em repouso para arrefecimento e, então, 3 amostras foram tomadas para análise química no Laboratório de Análise Solos e Tecidos Vegetais da Fundação Shunji Nishimura de Tecnologia. Os resultados desta análise encontram-se no Quadro 1.

Quadro 1. Resultado da análise de substrato utilizado nos vasos do experimento

Nº de amostra	pH		g/	mg	mmolc/dm3								V%	mg	mg/dm3					Relações		
Interessado	CaCl	H O	dm3	dm3	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	dm3		Fe	Mn	sZn	Cu	B	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	
	2	2	MO	P								S										
1	6,3	6,9	18	318	17,2	114	30	0	14	161	175	92	62	35	34	10	1,4	1,2	3,8	6,6	1,7	
2	7	7,5	18	276	16,8	103	26	0	11	146	157	93	61	36	37	8	1,6	1,3	4,0	6,1	1,5	
3	6,8	7,3	19	366	17,1	104	24	0	11	145	156	93	63	38	35	8	1,7	1,4	4,3	6,1	1,4	

Fonte: Laboratório de Análise Solos e Tecidos Vegetais da Fundação Shunji Nishimura de Tecnologia, 2022.

Devido à boa fertilidade geral do substrato, não houve necessidade de correções com fertilizantes e calcário. Desta forma, o substrato foi colocado em vasos de 25 L de capacidade e acondicionados sobre bancadas da estufa.

Os tratamentos consistiram em testemunha e da adição de inoculante *Azospirillum brasilense* e/ou *Metarhizium anisopliae* em duas formas de aplicação, sulco de plantio e tratamento de semente. Como fonte de *Azospirillum brasilense*

Comentado [AMG1]: COMO SE TRATA DE UM QUADRO DE INFORMAÇÕES, SEGUNDO AS NORMAS, DEVE APRESENTAR TODAS AS BORDAS EXTERNAS

utilizou-se o inoculante NODUGRAM em forma líquida na dosagem de 0,1L/ha e o *Metarhizium anisopliae* foi adicionado na forma de esporos secos na dosagem $2,6 \times 10^{10}$ conídios/vaso. Cada planta recebeu 2,6 ml de uma suspensão de 10^{10} conídios/ml, doses normalmente recomendadas no caso de ambos os produtos.

Para realizar a aplicação no sulco simulando a aplicação do produto no sistema *drench* na passagem da semeadora foi utilizado uma seringa, em movimento retilíneo com o sulco ainda aberto, logo após receber a semente (Figura 2). Na aplicação do produto na semente foram utilizados recipientes plásticos onde o(s) produto(s) e as sementes foram adicionados e bem misturados com adição de água, tendo assim uma maior uniformidade na aplicação do inoculante na semente.

Figura 2. Aplicação das soluções no sulco por meio de seringa simulando a aplicação no momento da semeadura



Fonte: Autor

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado na instalação do experimento e, combinando-se os fatores a serem avaliados, utilizou-se 7 tratamentos com 6 repetições, o que resultou no uso de 42 vasos (Quadro 2).

Quadro 2. Tratamentos e suas aplicações no experimento

Nº de Tratamentos	Tratamentos
T1	Testemunha
T2	<i>Azospirillum</i> / sulco
T3	<i>Metarhizium</i> / sulco
T4	<i>Azospirillum</i> e <i>Metarhizium</i> / sulco
T5	<i>Azospirillum</i> / semente
T6	<i>Metarhizium</i> / semente
T7	<i>Azospirillum</i> e <i>Metarhizium</i> / semente

Fonte: Autor

A semeadura foi realizada no dia 14 de outubro de 2022, sendo definido uma profundidade das sementes de 2 centímetros com 2 sementes por sulco, ocorrendo a remoção de uma das plantas no caso de germinação das duas sementes, garantindo uma planta por vaso. Quinzenalmente foi realizada a alternância dos vasos de lugar para reduzir o efeito do ambiente (principalmente luz) sobre o desenvolvimento das plantas.

Periodicamente, ao longo do seu ciclo, avaliou-se características biométricas das plantas, como altura total de plantas (a cada 20 dias) e diâmetro de colmo (mensalmente). Devido à forma irregular do colmo, esta medida foi resultado de uma média de duas medições, sendo uma realizada na face mais estreita e a outra na face mais larga do colmo.

Aos 126 dias após o plantio realizou-se a verificação do teor de umidade das sementes com o auxílio de um medidor de umidade portátil da marca Agrologic. Aos 144 dias após semeadura (DAS) foi realizada a avaliação final do experimento, separando-se folhas, colmo, espigas e raízes. Estas partes das plantas foram secas em estufa de circulação forçada à 60°C até peso constante determinando-se, então, a massa seca de matéria de folhas (MSF), massa seca e matéria de colmo (MSC), massa seca de matéria de espigas (MSE), massa seca de matéria de raízes (MSR) e peso de 50 sementes.

Figura 3. Medidor de umidade de sementes portátil utilizada para determinar o ponto de coleta final de dados.



Fonte: Autor

Os dados foram submetidos à análise de variância realizada com o auxílio do programa estatístico SISVAR versão 5.8 (FERREIRA, 2018) e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott à 5% de significância. Para efeito de análise, os dados foram transformados para $\sqrt{x + 0,5}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado na Tabela 1, MSR e massa de 50 sementes, não apresentaram variações significativas entre os tratamentos.

Tabela 1 - Dados médios das variáveis diâmetro do colmo, altura da planta, massa seca das folhas (MSF), massa seca do colmo (MSC), massa seca da raiz (MSR) e sementes, de sementes de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* e *Metarhizium anisopliae* no sulco e na semente – Pompeia (SP) – 2023.

Tratamento	Diâmetro(cm)	Altura (cm)	MSF (g)	MSC (g)	MSR (g)	Sementes (g)
T1	2,65 a	250,83 b	121,33 a	119,67 b	250,33 a	12,75 a
T2	2,75 a	224,00 a	118,66 a	84,50 a	322,33 a	11,00 a
T3	2,75 a	252,50 b	125,33 a	107,33 b	223,00 a	10,75 a
T4	2,90 b	243,50 b	127,50 a	101,33 a	727,66 a	11,25 a
T5	2,95 b	244,33 b	127,83 a	109,33 b	745,00 a	12,00 a
T6	3,00 b	221,33 a	130,50 a	93,17 a	424,33 a	11,75 a
T7	2,91 b	246,83 b	113,83 a	133,00 b	343,66 a	12,00 a
CV (%)	7,25	8,69	11,52	19,58	77,99	10,77

Nota: Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Como pode ser observado na Tabela 1, os tratamentos que envolveram a aplicação dos microrganismos via semente mostraram-se estatisticamente superiores às médias para a aplicação no sulco de plantio e testemunha, com exceção da combinação *Azospirillum* e *Metarhizium* via sulco. Desta forma, para esta característica, a inoculação isolada dos microrganismos aqui experimentados, via semente, mostrou-se na maioria dos casos benéfica, uma vez que o maior diâmetro do caule pode proporcionar maior resistência das plantas à tombamento (DEMÉTRIO *et al.*, 2008). O mesmo efeito foi observado quando realizou-se a combinação dos dois microrganismos no mesmo tratamento e aí o efeito se mostrou independente da forma de aplicação.

Para a característica altura total de planta, os tratamentos *Azospirillum* no sulco e *Metarhizium* na semente proporcionaram médias inferiores à dos outros tratamentos, inclusive da testemunha. Assim como o aumento do diâmetro do colmo das plantas, as plantas mais baixas também podem contribuir para maior resistência destas ao tombamento causado pelo vento (LI, Y. *et al.*, 2007), além de que plantas mais baixas poderiam vir a permitir uma maior densidade de plantio, pois haveria uma

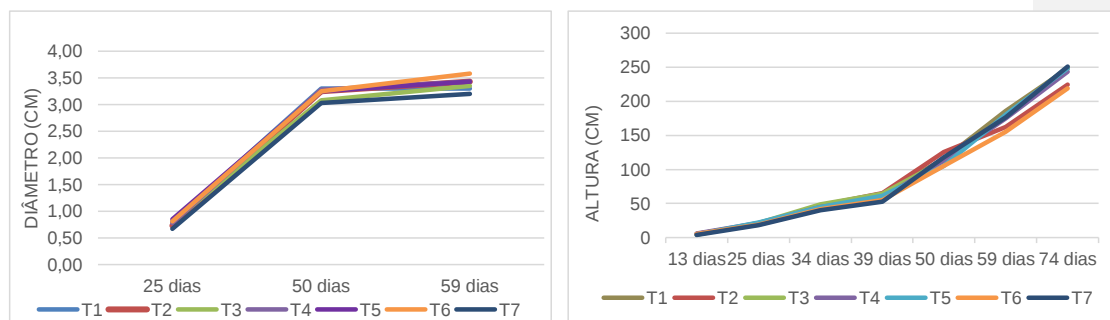
redução do espaço ocupado pelas plantas e a maior penetração de luz na copa das plantas, podendo resultar num aumento da produtividade por hectare.

Embora a aplicação combinada dos microrganismos aplicados via semente tenha resultado num incremento de 11% na média de MSC, o teste de médias não acusou diferença significativa para esta variável em relação à testemunha. Este resultado pode ter sido afetado pelo aumento do CV% para esta variável, uma vez uma diferença semelhante (de 10%) na média destes dois tratamentos para a característica altura resultou em diferença significativa, à um CV% bem menor. O mesmo efeito do CV% sobre o resultado do teste de médias pode responder pela falta de diferença estatisticamente significante entre as médias para MSR, mesmo com variações de quase 300% entre testemunha (T1) e a aplicação de *Azospirillum* via semente (T5). Uma possível causa para um coeficiente de variação tão alto (CV de 77,99%) pode estar no processo utilizado para separar as raízes do substrato, com remoção excessiva de radículas e/ou permanência de substrato ainda entre as raízes.

Apesar de efeitos significativos de alguns tratamentos sobre a altura e diâmetro de colmo de plantas, não foi possível observar variação significativa no desenvolvimento dos grãos, uma vez que as médias de massa de 50 sementes não apresentaram diferenças significativas.

Como pode ser observado no Gráfico 1, não foi possível observar variações no crescimento em altura e diâmetro ao longo do experimento que chamassem a atenção. O comportamento das plantas quanto à estas variáveis, nos diferentes tratamentos, foram bastante semelhantes, distinguindo-se um pouco ao final dos 144 DAS, como acusado pela análise de médias.

Grafico 1- Curvas de crescimento em diâmetro (A) e altura das plantas (B) em cada tratamento.



Fonte: Autor

A inoculação de *Metarhizium anisopliae* na cultura do milho em geral garantiu resultados próximos em relação ao tratamento com o *Azospirillum brasilense*, uma vez que o fungo *M. anisopliae* apresentou resultados que se destacaram nas características de diâmetro, altura e massa seca do colmo. Essa observação está de acordo com estudos semelhantes usados em experimentos com a cultura do tomate que, de acordo com os dados, impulsionou notavelmente o crescimento da planta, demonstrado pelo aumento na altura da planta, comprimento da raiz e peso seco da parte aérea e raízes em comparação com o não inoculado a plantas (SIQUEIRA *et al*, 2020).

Pelo fato de os produtos testados não oferecerem, possivelmente, riscos ao meio ambiente ou à saúde humana, e em função do fato de que o efeito de *Azospirillum* e *Metarhizium* na cultura do milho e em outras culturas seja variável, nem sempre proporcionando resultados positivos em produtividade, seria interessante que fossem realizados outros experimentos com o uso desses produtos nas mais diversas condições de cultivo e solo, para uma futura recomendação de uso na agricultura.

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos foi possível concluir que as características avaliadas variaram de modo diferenciado entre os tratamentos, não destacando nenhum tratamento específico.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao agrônomo Aldo Kiyoyi Sato, aos alunos Gabriel Chaves Albert, João Victor Corrent e Maria Estela Alves dos Santos na colaboração nos procedimentos que fazem parte do processo experimental deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2ª ed. Piracicaba, FEALQ, p. 1163, 1998.

AMANDIO, D. T. T. **Avaliação de isolados de *Metarhizium* spp. (Ascomycota: Hypocreales) nativos de Santa Catarina na promoção de crescimento de gramíneas (Poacea) forrageiras e antagonismo a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**, Programa de pós-graduação em recursos genéticos vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, 2022

BODDEY, R. M.; DOBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grsses and cereals; Recent progress and perspectives for the future. Fertilizer Research Oxford, v.42, p.241-250, 1995.

DEMÉTRIO, C. F.; FILHO, D. F.; CAZETTA, J. O.; CAZETTA, D. A. **Desempenho de híbridos de milho submetidos a diferentes espaçamentos e densidades populacionais**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, São Paulo, 2008.

EMBRAPA. Pesquisadores identificam fungos que estimulam o crescimento do tomate. São Paulo, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/59649663/pesquisadores-identificam-fungos-que-estimulam-o-crescimento-de-tomate#:~:text=Cientistas%20da%20Universidade%20de%20S%C3%A3o,melhorar%20a%20imunidade%20dessas%20plantas>. Acesso em: 13 mai. 2023.

FANCELI, L.A; DOURADO NETO, D. Produção de milho. Livrocere: Livraria e Editora Agropecuária Ltda, 2ª Edição, 2008, 360p.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. Revista Brasileira de Biometria, [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019. ISSN 1983-0823.GUGINSKI, C. A.; SILVA, E. R. L. da; **Compatibilidade de produtos alternativos com *Metarhizium anisopliae* (METSCH) sorokin**. I Congresso de ciência e tecnologia da UTFPR, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, 2011.

HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C.F.; **Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp.**

Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental v.4, n. 1, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2000.

LI, Y. et al. The genetics relationships among plant-height traits found using multiple trait QTL mapping of a dent corn and popcorn cross. *Genome*; Toronto, v.50, n.4, p.357-364, 2007

MACHADO, V. T. S.; RIBEIRO, M. C. S.; MACEDO, R. F.; **Aplicação de calcário em superfície e adubação com molibdênio na cultura do milho em plantio direto.** II Congresso de ensino e pesquisa e extensão da UEG, Universidade Estadual de Goiás, 2015.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J.; Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, *Applied and Environmental Microbiology*, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.

OLIVEIRA, N. T. de. **Mecanismos de ação de um bioestimulante à base de substância húmicas sobre desenvolvimento do milho.** Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia. Universidade Federal de São João Del-Rei, 2020.

QUADROS, P. D. de.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F. da.; VIEIRA V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. de O.; Desempenho agrônômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*, *Revista Ceres* 61, 2014.

SIQUEIRA, A. C. O.; MASCARIN, G. M.; GONÇALVES, C. R. N. C. B.; MARCON, J.; QUECINE, M. C.; FIGUEIRA, A.; JUNIOR, I. D.; **Características bioquímicas multicaracterísticas de espécies de metarhizium e suas atividades que estimulam o crescimento de plantas de tomate.** Sec. Biologia Vegetal e Sustentabilidade. Artigo v. 4, 2020