

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
CURSO DE AGRONOMIA

Rafael Silveira Valderrama

**Efeito de *Bacillus* sp. no crescimento e produtividade de milho (*Zea mays* L.) cultivado
no planalto catarinense (SC)**

Curitibanos

202

Rafael Silveira Valderrama

Efeito de *Bacillus* sp. no desenvolvimento de milho (*Zea mays* L.) cultivado no planalto catarinense (SC)

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Agronomia do Centro de ciências agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em eng. Agrônomo.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Glória Regina Botelho.

Curitibanos
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Valderrama, Rafael Silveira
Efeito de Bacillus sp. no crescimento e produtividade
de milho (Zea mays L.) cultivado no planalto catarinense
(SC) / Rafael Silveira Valderrama ; orientadora, Glória
Regina Botelho, 2020.
39 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2020.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Agronomia. 3. RPCV. 4. Inoculação. I.
Botelho, Glória Regina. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Agronomia. III. Título.



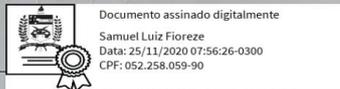
SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia
Rodovia Ulysses Gaboardi km3
CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitibanos - SC
TELEFONE (048) 3721-2176 E-mail: agronomia.cbs@contato.ufsc.br.

RAFAEL SILVEIRA VALDERRAMA

**Efeito de *Bacillus* sp. no crescimento e produtividade de milho (*Zea mays* L.)
cultivado no planalto catarinense (SC)**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

Curitibanos, 16 de novembro de 2020.

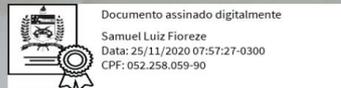


Coordenador do Curso



Profª. Dra. Glória Regina Botelho
Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. Samuel L. Fioreze
Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Ms. Marcielly F. Turatto
Membro da banca examinadora
Corteva Agriscience

RESUMO

O milho (*Zea Mays* L.) é insumo de diversos produtos. São utilizados de 60 a 70% para a alimentação de suínos e aves. Deste modo, as expectativas de aumento de consumo dessas carnes, impactam projeções de incremento de demanda desse cereal, sendo necessárias adubações corretas e a inserção de novas tecnologias, como por exemplo, a inserção de microrganismos promotores de crescimento para elevar sua produtividade (CONAB, 2019). Com esse trabalho, o objetivo foi avaliar o potencial de isolados de *Bacillus* sp., comparando com a adubação nitrogenada no crescimento e produtividade do milho (*Zea mays* L.) em condições de campo. Onde a hipótese inicial foi que os isolados poderiam induzir o crescimento vegetal, as testemunhas para comparação foram os tratamentos com as doses de 0% de N (T1), 50% de N (T2) e 100% de N (T3). Foram realizados oito tratamentos; tratamento 1 (T1) foi a testemunha sem adubação e sem inoculação; T2 foi o tratamento sem inoculação e com 50% da dose de nitrogênio distribuído em cobertura (67,5 Kg de nitrogênio por hectare); T3 foi o tratamento sem inoculação e com 100% da dose de nitrogênio distribuído em cobertura (135 Kg de nitrogênio por hectare); T4 foi inoculado com isolado de *Bacillus* sp. EB23; T5 foi inoculado com isolado de *Bacillus* sp. EB12; T6 foi inoculado com isolado de *Bacillus* sp. EB02; T7 foi inoculado com isolado de *Bacillus* sp. EB16; T8 foi utilizado o inoculante comercial com a estirpe padrão de *Azospirillum brasiliense* abV5. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso e após ANOVA, as médias foram agrupadas por Scott Knott a 5%. As avaliações analisadas foram matéria úmida e seca da parte aérea, altura de plantas, diâmetro de colmo, teor de nitrogênio foliar, número de grãos na por fileira na espiga, número de fileiras por espiga, diâmetro de espiga e produtividade. Dos parâmetros avaliados foi observado que a inoculação com os isolados EB23, EB12 e com o produto comercial com base na estirpe padrão de *A. brasiliense* (abV5) se assemelharam estatisticamente ao tratamento com 50% de adubação exógena de nitrogênio no parâmetro teor de nitrogênio foliar. No quesito massa seca da parte aérea o tratamento com inoculação do EB23 foi tão eficiente quanto o tratamento com 100% de nitrogênio. O isolado EB16 se destacou em relação aos demais, esse alcançou médias superiores a testemunha nos quesitos diâmetro de espiga, número de fileiras por espiga, teor de nitrogênio foliar, diâmetro de colmo e altura de planta. Portanto, os isolados EB23, EB12, EB16 e abV5 demonstraram eficiência como promotores de crescimento.

Palavras-chave: RPCV. Bactérias promotoras de crescimento vegetal. Inoculação.

ABSTRACT

Corn (*Zea Mays* L.) is an input for several products. 60 to 70% are used to feed pigs and poultry. Thus, as expectations of increased consumption of these meats, impact projections of increased demand for this cereal, requiring correct fertilization and the insertion of new technologies, such as an insertion of microorganisms that promote growth to increase its productivity (CONAB, 2019) With this work, the objective was to evaluate the potential of obtaining *Bacillus* sp., Comparing with a nitrogen fertilization in the growth and productivity of corn (*Zea mays* L.) under field conditions. Where the initial hypothesis is that the chosen ones can induce plant growth, since the people for comparison were treatments with doses of 0% N (T1), 50% N (T2) and 100% N (T3) . Eight treatments were performed; treatment 1 (T1) was the control without fertilization and without inoculation; T2 was the treatment without inoculation and with 50% of the nitrogen dose distributed in coverage (67.5 Kg of nitrogen per hectare); T3 was the treatment without inoculation and with 100% of the nitrogen dose distributed in coverage (135 kg of nitrogen per hectare); T4 was inoculated with *Bacillus* sp. EB23; T5 was inoculated with *Bacillus* sp. EB12; T6 was inoculated with *Bacillus* sp. EB02; T7 was inoculated with *Bacillus* sp. EB16; T8 was used for commercial inoculant with a standard strain of *Azospirillum brasiliense* abV5. The experimental design was in randomized blocks and after ANOVA, as means were grouped by Scott Knott at 5%. As evaluations analyzed were wet and dry matter of the aerial part, plant height, stem diameter, leaf nitrogen content, number of grains per row in the ear, number of rows per ear, ear diameter and productivity. From the obtained parameters it was observed that the inoculation with those obtained EB23, EB12 and with the commercial product based on the standard strain of *A. brasiliense* (abV5) was statistically similar to the treatment with 50% exogenous nitrogen fertilization in the leaf nitrogen content parameter . In the dry matter of the aerial part, the treatment with EB23 inoculation was as efficient as the treatment with 100% nitrogen. The isolate EB16 stood out in relation to the others, which reached averages higher than the control in terms of ear diameter, number of rows per ear, leaf nitrogen content, stem diameter and plant height. Therefore, isolates EB23, EB12, EB16 and abV5 demonstrated efficiency as growth promoters.

Keywords: RPCV. Plant growth promoting bacteria. Inoculation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Precipitação observada durante o ciclo do milho.	17
Figura 2 – Croqui do experimento	20
Figura 3 – Amostras trituradas e alocadas para o início do processo de quantificação do teor de nitrogênio foliar	22
Figura 4 - Amostras de matéria seca da parte aérea do milho	23
Figura 5 – Massa úmida da parte aérea, em g	24
Figura 6 – Massa seca da parte aérea, em g.	25
Figura 7 – Altura das plantas de milho avaliada aos 88 DAS.	26
Figura 8 – Diâmetro de colmo avaliado aos 88 DAS.	28
Figura 9 – Teor de nitrogênio foliar avaliado aos 92 DAS.	29
Figura 10– Produtividade da cultura, em Kg ha ⁻¹	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades químicas do solo antes da implantação do experimento.....	18
Tabela 2 - Tratamentos experimentais.....	20
Tabela 3 – Número de grãos por fileira, fileiras por espiga e diâmetro por espiga.....	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	OBJETIVO.....	11
1.1.1	Objetivo geral	11
1.2	JUSTIFICATIVA	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO	12
2.2	NUTRIÇÃO E ADUBAÇÃO NA CULTURA DO MILHO.....	12
2.3	RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL (RPCV)	13
2.4	GÊNERO <i>Bacillus</i> spp.....	14
3	MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ÁREA	17
3.2	SELEÇÃO E INOCULAÇÃO DAS BACTÉRIAS	18
3.2.1	Seleção dos isolados de <i>Bacillus</i> sp.	18
3.2.2	Preparo do inoculante	18
3.3	INOCULAÇÃO E SEMEADURA.....	19
3.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	19
3.5	MANEJO.....	21
3.6	PARÂMETROS AVALIADOS	21
3.6.1	Altura de plantas	21
3.6.2	Diâmetro de colmo	21
3.6.3	Número de grãos por espiga, fileiras por espiga e diâmetro de espigas	21
3.6.4	Nitrogênio Foliar	22
3.6.5	Massa de matéria seca da parte aérea	22
3.6.6	Produtividade	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24

4.1	MATÉRIA ÚMIDA E SECA DA PARTE AÉREA	24
4.2	ALTURA DE PLANTA	26
4.3	DIÂMETRO DE COLMO	27
4.4	NITROGÊNIO FOLIAR.....	29
4.5	NÚMERO DE GRÃOS POR FILEIRA, FIELIRAS POR ESPIGA E DIÂMETRO POR ESPIGA	31
4.6	PRODUTIVIDADE	32
5	CONCLUSÃO.....	35
	REFERÊNCIAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma dos principais “commodities” agrícolas, sendo o Brasil o terceiro maior produtor e o segundo maior exportador do mesmo (CONAB, 2019). A produtividade brasileira é em média de 5.436 Kg há⁻¹ e sua produção foi de 100.043,00 mil toneladas na safra 2018/2019 (CONAB, 2019). Santa Catarina está inserida nesse contexto, como o oitavo estado que mais produziu milho na safra 2018/2019, atingindo a produção de 2.836,1 mil toneladas (CONAB, 2019).

O milho é insumo de diversos produtos. São utilizados de 70 a 80% do milho, no Brasil, para a alimentação de suínos e aves (GARCIA, 2016). Deste modo, as expectativas de aumento de consumo dessas carnes impactam projeções de incremento de demanda desse cereal, sendo necessárias adubações corretas e a inserção de novas tecnologias para elevar sua produtividade (CONAB, 2019).

O clima tropical úmido prevalece na maior parte do Brasil, resultando na formação de solos muito profundos e intemperizados (BARUQUI *et al.*, 2006). Por esse motivo há a necessidade de distribuir as quantidades de fertilizantes químicos contendo macro e micro nutrientes para o cultivo de diversos cereais (BARUQUI *et al.*, 2006). O nutriente que o milho necessita em maiores quantidades é o nitrogênio (REIS *et al.*, 2015).

O sistema de cultivo utilizado e as condições climáticas podem favorecer a lixiviação e volatilização do Nitrogênio (SANGOI *et al.*, 2003). Fertilizantes utilizados como fonte de N na agricultura são altamente dispendiosos e frequentemente lixiviados, resultando em aumento de custos para o agricultor e contaminação ambiental (HUNGRIA *et al.*, 2011). Sendo assim, a utilização de novas tecnologias, como o uso de Rizobactérias Promotoras de Crescimento Vegetal (RPCV), com potencial de realizar a fixação biológica de nitrogênio, dentre outros mecanismos de estímulo ao desenvolvimento de plantas, podem reduzir a aplicação exógena desse nutriente (LEONCIO, 2015).

Com a utilização de RPCV esses entraves podem ser mitigados, pois essas possuem menor valor comercial que fertilizantes e não prejudicam o meio ambiente (HUNGRIA *et al.*, 2011).

Para que ocorra a diminuição desses problemas ocasionados pelo uso excessivo de fertilizantes, diversos trabalhos vêm demonstrando a eficiência de Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal (MPCV), como as RPCV que quando associadas com plantas podem elevar o seu potencial produtivo (GARCIA *et al.*, 2016).

As RPCV são compostas por vários gêneros bacterianos, entre os quais os mais estudados são *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium* (BATISTA, 2012). Atualmente, as RPCV estão sendo alvo de diversos estudos, pois trabalhos demonstraram a sua eficiência em vários aspectos, entre eles, Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), estímulo ao crescimento de plantas pela síntese de fitohormônios, potencial para controle biológico e síntese de substâncias anfífilicas (podendo ser utilizadas como surfactantes em aplicações de defensivos agrícolas) (FERREIRA *et al.*, 2018; GARCIA *et al.*, 2006).

O gênero *Bacillus* é constituído de várias espécies que habitam solos brasileiros (GOMES *et al.*, 2003). Segundo Logan e Turbull (1999 apud BARROS e PANETTA, 2002), os representantes desse gênero são bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas que apresentam o endósporo como estrutura de resistência. As bactérias pertencentes a esse gênero ajudam a melhorar o desempenho de vegetais de vários modos, pois têm a capacidade de fixação biológica de nitrogênio (ANDRADE, 2012), produção de sideróforos (HARMAN *et al.*, 2004), produção de fitohormônios (LEONCIO, 2015) e indução de resistência nas plantas (RAMAMOORTHY *et al.*, 2001).

1.1 OBJETIVO

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial de isolados de *Bacillus* sp., associados a adubação nitrogenada no desenvolvimento do milho (*Zea mays* L.) em condições de campo.

1.2 JUSTIFICATIVA

Como a atual demanda por milho está em crescimento necessita-se aumentar a produtividade da cultura. Porém, a utilização de tecnologias como a fertilização nitrogenada mineral torna o processo produtivo dispendioso e com alto custo ambiental. As RPCV possuem baixo custo, reduzem os riscos ambientais causados no processo produtivo e auxiliam no desenvolvimento vegetal.

Estudos demonstraram o potencial de espécies do gênero *Bacillus* em promover a fixação biológica de nitrogênio e síntese de compostos, como os fitohormônios, que auxiliam no crescimento de diversas culturas (LEONCIO, 2015).

RPCV são adaptadas a condições edafoclimáticas específicas, deste modo, utilizar um isolado em regiões distintas pode resultar em respostas diferentes. Para a região de

Curitibanos, existem poucos estudos sobre o efeito de RPCV, em especial espécies do gênero *Bacillus* na cultura do milho. Deste modo, a utilização dessas bactérias pode contribuir para o aumento da produtividade de culturas como o milho, reduzindo o custo de produção para o agricultor e a degradação ambiental.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS GERAIS DA CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) pertence à família Poaceae, é uma gramínea de verão e pode ser cultivado em todo território brasileiro (NORMAN *et al.*, 1995). Tem origem na América central, especificamente no México e Panamá (FORNAESIERI FILHO, 2007). É uma planta anual, apresenta ciclo fenológico dependente do clima da região e da variedade utilizada, com variação de 110 a 200 dias (MAGALHÃES *et al.*, 1995). Possui ciclo fotossintético C4, ou seja, tem elevada capacidade de converter CO₂ em compostos orgânicos, resultando em alta produção de biomassa, quando cultivado em condições adequadas (MAGALHÃES, *et al.*, 2002).

O milho possui grande importância econômica, sendo uma das principais “commodities” agrícolas. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial, ficando atrás do EUA e da China, com uma produção (na safra 2018/2019) de 92.808 mil toneladas em uma área de 17.075 mil ha, atingindo uma produtividade média de 5.435 kg/ha (CONAB, 2019).

Sua produção é destinada alimentação humana, animal e à indústria (KLEINSCHMITT, 2018). As aplicações industriais são na produção de etanol, corantes, adesivos, fitas gomadas e papelão, e como alimento é utilizado para a fabricação de cervejas, fubás, óleos, molhos e consumo *in natura* (BARROS e ALVES, 2015). Porém, a maior parte do milho produzido no Brasil se destina a alimentação de suínos e aves, de 70 a 80% (GARCIA, 2016).

O milho possui diferentes destinações por apresentar relevante qualidade nutricional, o grão é constituído por 71,50% de amido, 10,30% de proteínas e 4,80% de óleo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). A composição pode ser influenciada por fatores exógenos, como por exemplo, precipitação e nutrição.

2.2 NUTRIÇÃO E ADUBAÇÃO NA CULTURA DO MILHO

O milho é uma gramínea que quando associadas a programas de melhoramento resultam cultivares híbridas com diferentes necessidades edafoclimáticas (MAGALHÃES *et al.*, 2002). Portanto, fenótipo do milho é influenciado pelo ambiente e, deste modo, algumas variáveis influenciam sua produtividade.

A cultura necessita de modo decrescente em quantidade, dos nutrientes nitrogênio, potássio e fósforo. Pauletti (2004), observou em seu trabalho que para a produtividade de 140 sc ha⁻¹ na cultura do milho foram extraídos, respectivamente, 209, 183 e 82 Kg por hectare de N, P₂O₅ e K₂O. Porém, apenas uma fração do que é extraído, não retorna ao solo de cultivo (parte exportada). Quando o milho cultivado é destinado para a produção de grãos, a exportação de nutrientes é menor, pois grande parte da matéria seca permanece no campo e disponibiliza nutrientes para a próxima espécie cultivada (BROCH; RANNO, 2012). Para a formação de silagem, necessita-se de toda a massa seca da parte aérea, e nesse caso, a exportação de nutrientes é maior (BROCH; RANNO, 2012). Para corrigir a fertilidade do solo, aplica-se elevadas doses de fertilizante (MAGALHÃES *et al.*, 2002);(RITCHIE *et al.*, 2003);(SILVA, 2016).

Fatores como o estágio fenológico, método de manejo, escolha de cultivares são importantes para compreender as necessidades nutricionais das plantas e realizar a fertilização de forma correta (SILVA, 2016). Silva (2016) demonstrou que quanto maior o investimento em fertilizantes, maior é a produção de massa seca, mas não, necessariamente, altera a produção de grãos. Outra constatação presente no trabalho citado foi que a extração de nitrogênio pela cultura em condições de altos investimentos em adubação, chegou a 337,7 kg ha⁻¹ e em ambientes com médio investimento chegou a 245,5 kg ha⁻¹. Esses tratamentos não apresentaram diferença significativa na produtividade de grãos, demonstrando a importância de programas de adubação balanceada, que podem ser auxiliados pela utilização de novas tecnologias, evitando a utilização de excessivas doses de fertilizante (MAGALHÃES *et al.*, 2002);(RITCHIE *et al.*, 2003);(SILVA, 2016), como o uso de RPCV.

2.3 RIZOBACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO VEGETAL (RPCV)

As plantas liberam, pelas raízes, exsudatos radiculares, que são constituídos de ácidos carboxílicos, açúcares, aminoácidos e metabólitos secundários (FREITAS, 2007). Portanto, a rizosfera é um local propício para a sobrevivência de vários microrganismos. As Rizobactérias Promotoras do Crescimento Vegetal (RPCV) são bactérias que habitam a rizosfera e influenciam positivamente o desenvolvimento das plantas (FREITAS, 2007).

Os gêneros mais estudados de RPCV são *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Rhizobium*. Esses apresentam influências diversas sobre o desenvolvimento dos vegetais (FERREIRA *et al.*, 2018).

Há relatos de vários modos de ação das RPCV, como por exemplo, fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fósforo, produção de ácido indol acético, etileno, citocininas, giberelinas, ácido cianídrico, sideróforos, controle de fitopatógenos e aumento da tolerância das plantas a locais desfavoráveis (FERREIRA *et al.*, 2018)

Outra atribuição das RPCV é a sua capacidade de aumentar a tolerância das plantas aos substratos salinos. Em condições de altas concentrações de sais, muitas plantas liberam aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) diminuindo o seu crescimento. Porém, algumas bactérias têm a capacidade de metabolizar esse ACC, através da ACC-desaminase (FERREIRA *et al.*, 2018). Saravanakumar e Samiyappan (2007) constataram que a inoculação de *Pseudomonas fluorescens* em *Arachis hypogea* resultou em maior tolerância do vegetal a salinidade. Ferreira *et al.* (2018) demonstraram que a utilização de *Bacillus subtilis* na cultura do milho favoreceu a sua tolerância a substratos salinos.

2.4 GÊNERO *Bacillus* sp.

Segundo Logan e Turbull (1999 apud BARROS e PANETTA, 2002), o gênero *Bacillus* é composto por bactérias gram-positivas nas culturas jovens, mas muitas vezes podem ser gram-variáveis ou gram-negativas. Nesse gênero existem indivíduos aeróbios ou anaeróbios facultativos.

As bactérias representantes do gênero *Bacillus* apresentam endósporos, como estrutura de resistência. Essas estruturas são fatores positivos para bactérias inoculadas, pois elevam a tolerância as variáveis climáticas (KOKALIS-BURELLE *et al.*, 2006).

Há estudos demonstrando que alguns representantes do gênero *Bacillus* tem a capacidade de solubilizar fósforo (FREITAS *et al.*, 1997; TORO *et al.*, 1997), realizar fixação biológica de nitrogênio (LIMA *et al.*, 2011), controle de patógenos (JUNIOR *et al.*, 2015; KONDOH *et al.*, 2001), entre outros mecanismos.

Espécies do gênero *Bacillus* estão sendo amplamente estudadas por auxiliar o desenvolvimento vegetal. Araujo, (2008) testou a inoculação de um formulado contendo *Bacillus subtilis* e farinha de ostras, resultando em aumento significativo na emergência de algodão e soja. No mesmo trabalho foi constatado que a inoculação possibilitou incremento de massa seca na parte aérea e aumentou os teores de nitrogênio e fósforo foliar do milho (ARAUJO, 2008).

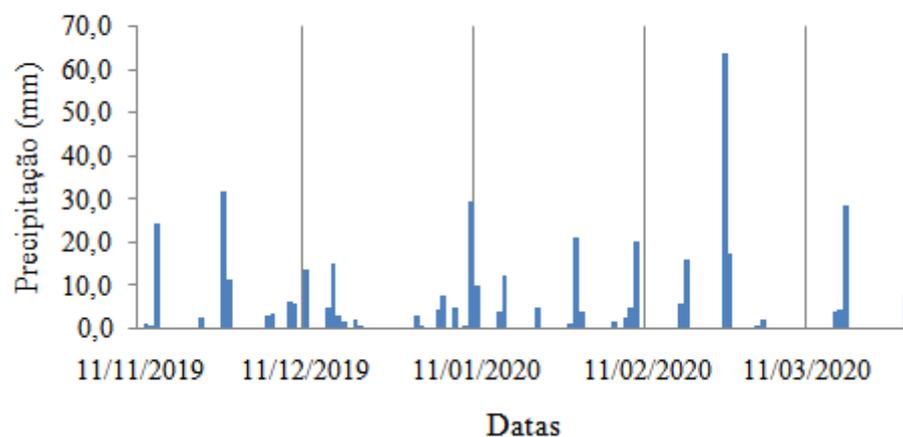
Lima *et al.* (2011) testaram a inoculação de *Bacillus subtilis* no milho, com diferentes doses de adubação nitrogenada (0; 40; 80; 120 e 160 Kg ha⁻¹). O milho obteve a maior produtividade no tratamento com a dose de 120 Kg ha⁻¹ de nitrogênio e com inoculação do isolado, quando comparado com o tratamento com a mesma dose de N e sem isolado de *Bacillus subtilis*. No mesmo trabalho foi observado que os tratamentos com as doses de 120 Kg ha⁻¹ e 160 Kg ha⁻¹ proporcionaram maiores resultados na leitura da clorofila, quando inoculados. Balbinot (2018) utilizou a inoculação de diferentes estirpes de *Bacillus* sp. na cultura do milho e comparou com tratamentos de 60 e 120 Kg ha⁻¹ de N. Os resultados obtidos demonstraram que os tratamentos com as estirpes de EB02, EB16 foram semelhantes ao tratamento com 60 Kg ha⁻¹ de N em relação à produtividade.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ÁREA

O trabalho foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina – *campus* de Curitibanos – SC. A propriedade está localizada nas coordenadas geográficas 27°27'38.15”S e 50°50'32.13”W, Datum SIRGAS 2000. Possui chuvas bem distribuídas (Figura 1) e sua precipitação média é de 1500 a 1700 mm. O clima da região é caracterizado como temperado, mesotérmico úmido, com temperatura média na faixa de 15°C a 25°C, e verão ameno (de acordo com a classificação climática de Köppen). A altitude da propriedade é de aproximadamente 1000 metros e o solo local é caracterizado como Cambissolo Háplico de Textura Argilosa, com relevo ondulado (EMBRAPA, 2006) e cujas características químicas se encontram na Tabela 1. A condução do experimento ocorreu na safra 2019/2020.

Figura 1 – Precipitação observada durante o ciclo do milho
Precipitação durante o ciclo do milho Curitibanos - SC
(2019/2020)



Fonte: Estação Meteorológica UFSC Curitibanos (UFSC)

Tabela 1 – Propriedades químicas do solo antes da implantação do experimento.

Propriedades	Amostras (0-20 cm)
pH Água	6,0
P (mg dm ⁻³)	17,25
K (cmol _c dm ⁻³)	0,20
Ca ² (cmol _c dm ⁻³)	10,72
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	5,44
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,00
H + Al (cmol _c dm ⁻³)	4,96
MO (g dm ⁻³)	47,52
SB (cmol _c dm ⁻³)	16,36
CTC pH7 (cmol _c dm ⁻³)	21,32
Zn (mg dm ⁻³)	3,50
Fe (mg dm ⁻³)	21,80
V (%)	76,74
Mn (mg dm ⁻³)	21,50
Cu (mg dm ⁻³)	3,90

Fonte: Autor

3.2 SELEÇÃO E INOCULAÇÃO DAS BACTÉRIAS

3.2.1 Seleção dos isolados de *Bacillus* sp.

As bactérias utilizadas fazem parte da Coleção de Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas da UFSC *campus* Curitibanos. Essas foram classificadas como pertencentes ao gênero *Bacillus*. Os isolados EB02, EB12, EB16 e EB23 foram selecionados em trabalhos anteriores (BALBINOT, 2018).

3.2.2 Preparo do inoculante

Cada isolado foi cultivado em 5,0 mL de meio Luria Bertani por 24h a 28°C. Em seguida 3,0 mL de cada suspensão bacteriana foram transferidos para quatro frascos contendo 0,9 g de turfa previamente esterilizada. Após a inoculação, os frascos foram levados á estufa bacteriológica por 72h a 28°C. Quatro frascos contendo 0,9 g de turfa esterilizada sem inoculação foram submetidas ao mesmo tratamento.

As proporções de turfa para elaboração dos inoculantes foram baseadas nas recomendações dos fabricantes de inoculantes comerciais.

Para o tratamento com *Azospirillum brasilense* foi utilizado o inoculante Biomax Premium. A inoculação foi feita de acordo com as recomendações do produto.

3.3 INOCULAÇÃO E SEMEADURA

O híbrido utilizado foi o BM 855 PRO 2 (Biomatrix). Caracterizado pelo fabricante como ciclo precoce, possui média a alta resposta a investimentos e média tolerância as principais doenças do milho.

Oito grupos de sementes de milho contendo 160 g foram misturadas a cada um dos inoculantes descritos acima, no dia do plantio, correspondendo aos oito tratamentos do experimento. Utilizou-se 2,7 mL de solução açucarada 10% (proporções recomendadas pelos fabricantes de inoculantes) para adesão às sementes em cada tratamento. Após a inoculação, as sementes secaram á sombra.

Vinte dias antes do plantio, realizou-se a dessecação das plantas de azevém (*Lolium multiflorum*) que estavam na área. No dia 11 de novembro de 2019 foi realizada a semeadura manual e realizada adubação de base com 13,5 Kg ha⁻¹ de N (apenas para o tratamento com 50% da dose, T2), 27 Kg ha⁻¹ de N (apenas para o tratamento com 100% da dose, T3), 135 Kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 66 Kg ha⁻¹ de K₂O.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

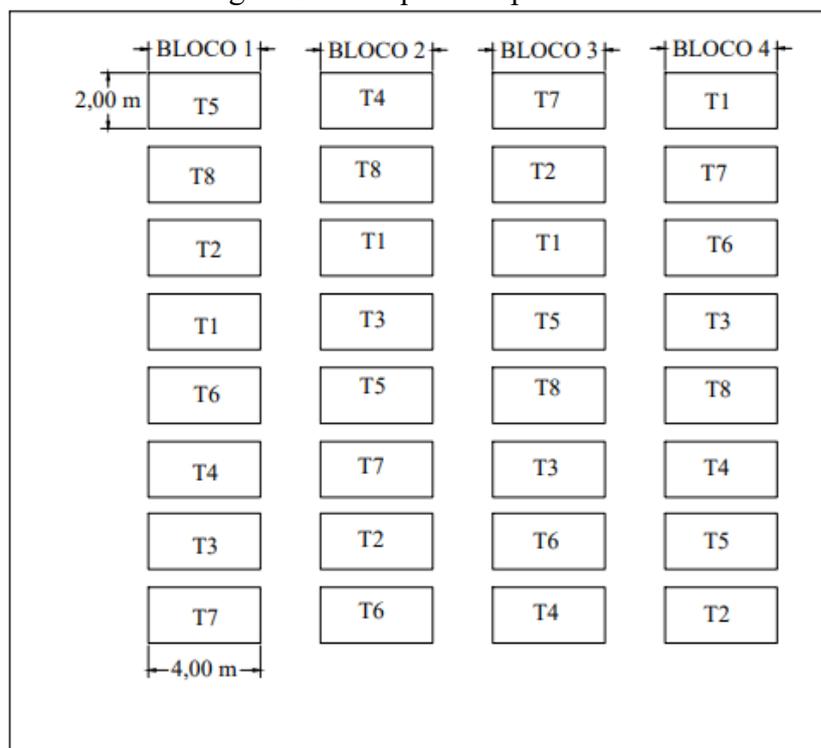
O experimento foi realizado em delineamento de blocos casualizados (DBC), composto por oito tratamentos e quatro repetições. As parcelas possuíam dois metros de largura e quatro metros de comprimento. Na tabela 2, estão descrito os tratamentos e sua distribuição na figura 2.

Tabela 2 - Tratamentos experimentais.

Tratamentos	Descrição
T1	Sem adubação e sem inoculação
T2	Sem inoculação e com 50% da dose de nitrogênio distribuído em cobertura (67,5 Kg de nitrogênio por hectare)
T3	Sem inoculação e com 100% da dose de nitrogênio distribuído em cobertura (135 Kg de nitrogênio por hectare)
T4	Inoculado com isolado de <i>Bacillus sp.</i> EB23
T5	Inoculado com isolado de <i>Bacillus sp.</i> EB12
T6	Inoculado com isolado de <i>Bacillus sp.</i> EB02
T7	Inoculado com isolado de <i>Bacillus sp.</i> EB16
T8	Utilizado o inoculante comercial com a estirpe padrão de <i>Azospirillum brasilense</i> abV5

Fonte: Autor

Figura 2 – Croqui do experimento



Fonte: Autor

Utilizou-se 0,4 metros de bordadura, portanto a área útil constituiu-se de quatro linhas centrais, com espaçamento de 40 cm entrelinha e 40 cm entre plantas. Para análise dos dados

obtidos, foi feita a análise de variância e quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, pelo software R.

3.5 MANEJO

Realizou-se capinas manuais para evitar a competição do milho com plantas daninhas. Não foi necessário utilizar defensivos agrícolas para o controle de pragas e doenças.

Com relação às adubações de cobertura. Para os tratamentos que não possuíam inoculação e possuíam 50% da dose de N recomendada (T2) e 100% (T3) foram realizadas duas aplicações de cobertura com a utilização do fertilizante nitrogenado ureia (45% de N). Foram realizadas entre os estádios fenológicos de desenvolvimento de V3-V4 e V6-V7, nas proporções de 27 e 54 kg de N em cada aplicação, respectivamente, para 50% (T2) e 100% de N (T3). Foi realizada adubação de K_2O no estágio fenológico de desenvolvimento V3-V4, com a quantidade de 44 Kg/ha, para todos os tratamentos.

3.6 PARÂMETROS AVALIADOS

3.6.1 Altura de plantas

Para avaliar a altura das plantas, utilizou-se uma trena métrica graduada, na área útil da parcela. No estágio fenológico de florescimento masculino, foram utilizadas 20 plantas por tratamento para análise, em que a altura da planta foi medida da base do milho, próxima ao solo, até a última folha.

3.6.2 Diâmetro de colmo

Para avaliar o diâmetro de colmo (cm), utilizou-se um paquímetro digital. A avaliação ocorreu em 20 plantas da área útil de cada tratamento. A avaliação foi realizada no estágio fenológico de florescimento masculino no segundo nó acima do solo.

3.6.3 Número de grãos por espiga, fileiras por espiga e diâmetro de espigas

Ao final do ciclo da cultura realizou-se a contagem do número de grãos e número de fileiras de grãos na espiga, posteriormente utilizou-se um paquímetro digital para avaliar o diâmetro das espigas. As avaliações foram realizadas em 20 plantas nas áreas úteis das parcelas em cada tratamento e realizou-se a média.

3.6.4 Nitrogênio Foliar

Para avaliação do nitrogênio foliar foi retirada a primeira folha oposta abaixo da primeira espiga (folha alvo), no estágio fisiológico de florescimento masculino. Vinte plantas da parte útil da parcela, em cada tratamento foram avaliadas. Retirou-se as extremidades das folhas alvo que foram identificadas, armazenadas em sacos de papel e levadas em estufa de circulação forçada de ar a temperatura de 45°C, em que foram mantidas por 48 horas, para a secagem. Em seguida realizou-se a trituração do material com auxílio do liquidificador (Figura 3).

O teor de N foliar foi realizado pelo método descrito por Tedesco (1995). A amostra foi decomposta com o auxílio de ácido sulfúrico concentrado a uma temperatura de 380 °C. Para quantificar o nitrogênio realizou-se destilação por arraste de vapor, posteriormente titulação com ácido diluído (NOGUEIRA; SOUZA, 2005).

Figura 3 – Amostras trituradas e alocadas para o início do processo de quantificação do teor de nitrogênio foliar.



Fonte: Autor

3.6.5 Massa de matéria seca da parte aérea

Para obtenção da massa seca da parte aérea (g), coletou-se 20 plantas por tratamento em estágio fenológico de desenvolvimento V8 (Figura 4). As amostras foram colocadas em estufa de circulação forçada de ar, a 70° C, até obtenção de peso constante (BRASIL *et al.*,2007) Em seguida foram pesadas em balança semi-analítica.

Figura 4 – Amostras de matéria seca da parte aérea do milho.



Fonte: Autor.

3.6.6 Produtividade

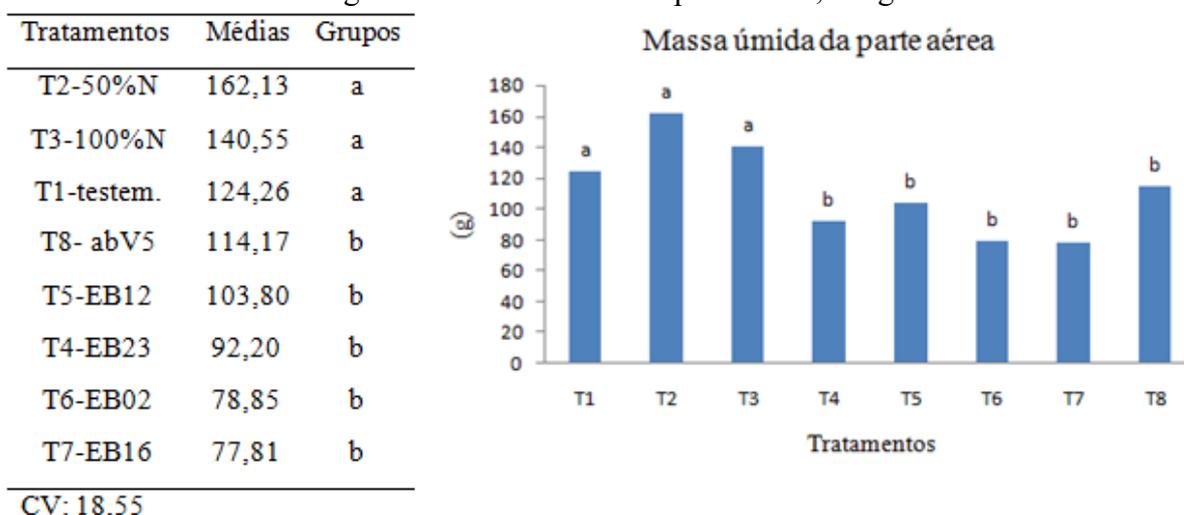
Para a quantificação da produtividade coletou-se 20 plantas da área útil para cada tratamento, no final do ciclo da cultura. A massa dos grãos foi pesada e foi realizado o cálculo para estimativa de produtividade (Kg ha^{-1}), com correção da umidade para 14%

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MATÉRIA ÚMIDA E SECA DA PARTE AÉREA

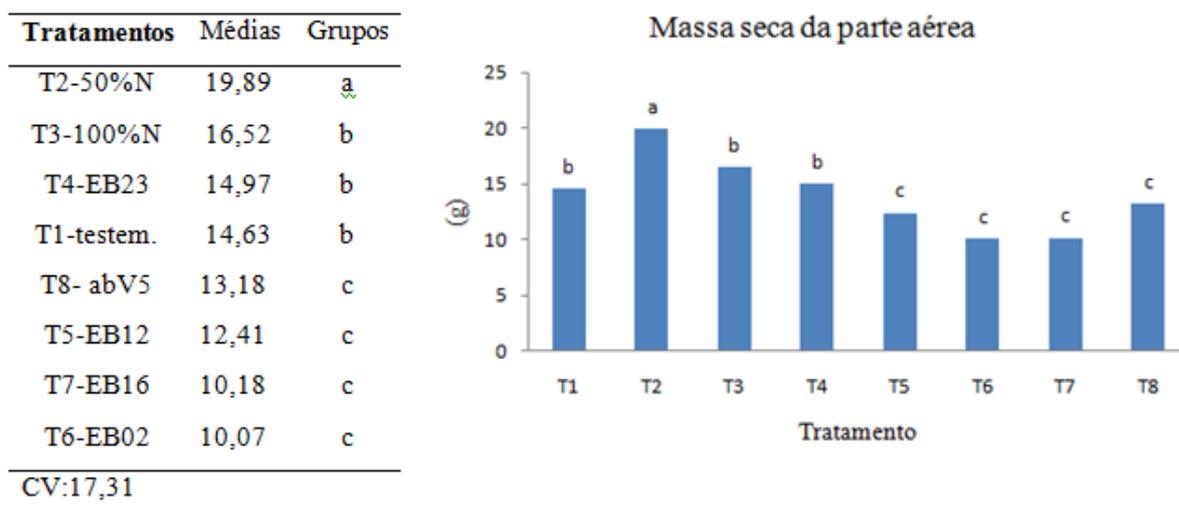
Houve diferença significativa para os parâmetros massa de matéria úmida e seca de parte aérea. Para massa úmida, os tratamentos inoculados com as bactérias foram inferiores em relação aos tratamentos com adubação e a testemunha (figura 5). A metade da dose recomendada de adubação nitrogenada apresentou a maior média de massa de matéria seca da parte aérea (Figura 6).

Figura 5 – Massa úmida da parte aérea, em g.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5% de significância. T1 - testemunha; T2 - 50% da dose de nitrogênio; T3 - 100% da dose de nitrogênio; T4 - *Bacillus* sp. EB23; T5 - *Bacillus* sp. EB12; T6 - *Bacillus* sp. EB02; T7 - *Bacillus* sp. EB16; T8 - estirpe padrão de *Azospirillum brasilense* abV5.

Figura 6 – Massa seca da parte aérea, em g.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5% de significância. T1 - testemunha; T2 - 50% da dose de nitrogênio; T3 - 100% da dose de nitrogênio; T4 - *Bacillus* sp. EB23; T5 - *Bacillus* sp. EB12; T6 - *Bacillus* sp. EB02; T7 - *Bacillus* sp. EB16; T8 - estirpe padrão de *Azospirillum brasilense* abV5.

Em relação à análise de matéria seca, as médias observadas atingiram três diferentes grupos estatísticos, em que o de maior média é constituído pelo tratamento com 50% de N (T2). No outro grupo estão os tratamentos com 100% de N (T3), com o isolado EB23 (T4) e a testemunha (T1). Os tratamentos com as menores médias foram aqueles com os isolados EB12, EB02, EB16 e *A. brasilense* abV5 que não estimularam o crescimento vegetativo da cultura em sua fase inicial. Na área experimental possuía azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), antes do plantio do milho e esse possui efeito alopático sobre o cereal (NOGUEIRA, 2015). Desse modo, o desenvolvimento inicial das plantas pode ter sido prejudicado. Com as plantas mais debilitadas, em um momento inicial, a presença das bactérias inoculadas pode ter intensificado esse efeito, pela competição por nutrientes. Essa possibilidade pode ser respaldada pelo fato da testemunha apresentar maior média que os demais tratamentos inoculados, exceto com o isolado EB23. Na literatura, grande parte das RPCV promovem o desenvolvimento de diversas plantas (FERREIRA *et al.*, 2018; FREITAS, 2007; LIMA *et al.*, 2011), significativamente quando comparado ao tratamento testemunha. Por este motivo, a alelopatia e a competição inicial podem sugerir uma resposta para o resultado observado.

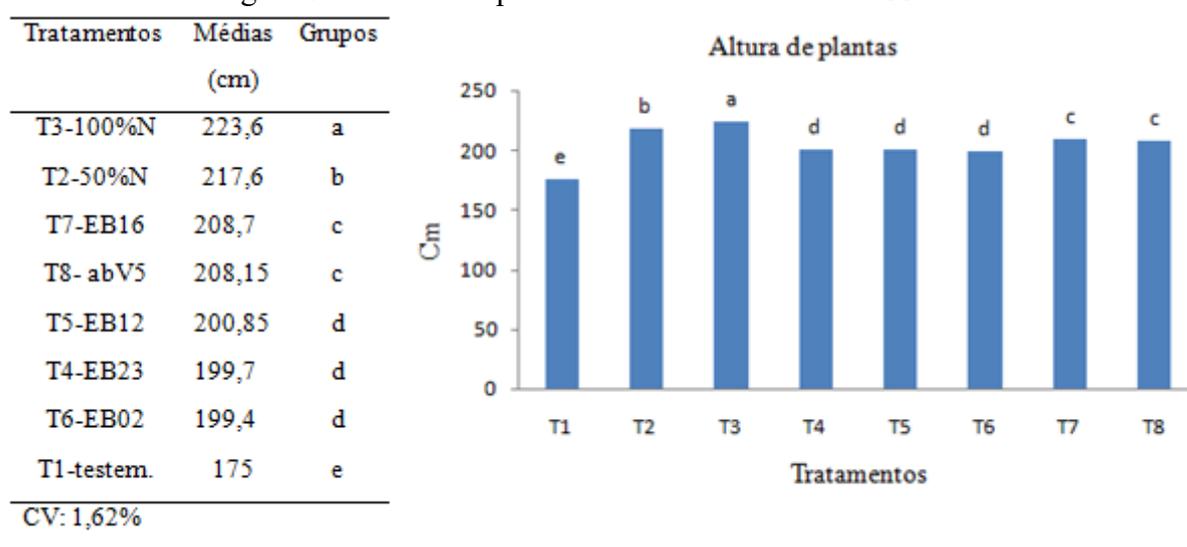
Kleinschmitt (2018) inoculou plantas de milho com *Azospirillum brasilense* e não observou diferença significativa para com a testemunha na massa de matéria seca da parte aérea, divergindo dos resultados encontrados por Quadros (2014), em que a inoculação com

três espécies de *Azospirillum* (*A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. oryzae*) elevou o teor de matéria seca da parte aérea dos híbridos de milho AS 1575 e SHS 5050.

4.2 ALTURA DE PLANTA

Na avaliação de altura das plantas aos 88 DAS, os isolados e *A. brasilense* apresentaram médias superiores às da testemunha (figura 7)

Figura 7 – Altura das plantas de milho avaliada aos 88 DAS.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5% de significância. T1 - testemunha; T2 - 50% da dose de nitrogênio; T3 - 100% da dose de nitrogênio; T4 - *Bacillus* sp. EB23; T5 - *Bacillus* sp. EB12; T6 - *Bacillus* sp. EB02; T7 - *Bacillus* sp. EB16; T8 - estirpe padrão de *Azospirillum brasilense* abV5.

Na avaliação de altura aos 88 dias após a semeadura os tratamentos se diferiram estatisticamente em cinco grupos, em ordem decrescente dos valores, T3 (100% de N) compõe o grupo “a”, T2 (50% de N) compõe o grupo “b”, T7 (EB16) e T8 (abV5) compõem o grupo “c”; T5 (EB12), T4 (EB23) e T6 (EB02) compõem o grupo “d” e o T1 (testemunha) demonstrou as menores médias, compondo o grupo “e”. Os tratamentos inoculados obtiveram médias superiores à testemunha e o isolado EB16 (T7) apresentou estímulo à altura semelhante ao AbV5 (T8), sendo ambos superiores aos demais isolados.

Balbinot (2018) e Modena (2019) também realizaram ensaios com a inoculação de isolados de bactérias na cultura do milho no planalto catarinense. Balbinot (2018) observou que o isolado EB16 não diferiu estatisticamente dos tratamentos com a adição de nitrogênio exógeno para este parâmetro, divergindo dos resultados encontrados no presente trabalho.

Porém, dentro dos tratamentos avaliados sem adição de nitrogênio, os tratamentos com o isolado EB16 e com o inoculante a base de *A. brasilense* alcançaram as maiores médias, demonstrando seu potencial como promotor de crescimento da cultura do milho. Modena (2019) observou que a inoculação com isolados do gênero *Pseudomonas* do grupo fluorescente associados à adubação exógena de N com 50% da dose recomendada para a cultura do milho não diferiu estatisticamente do tratamento com adubação com 100% da dose de nitrogênio.

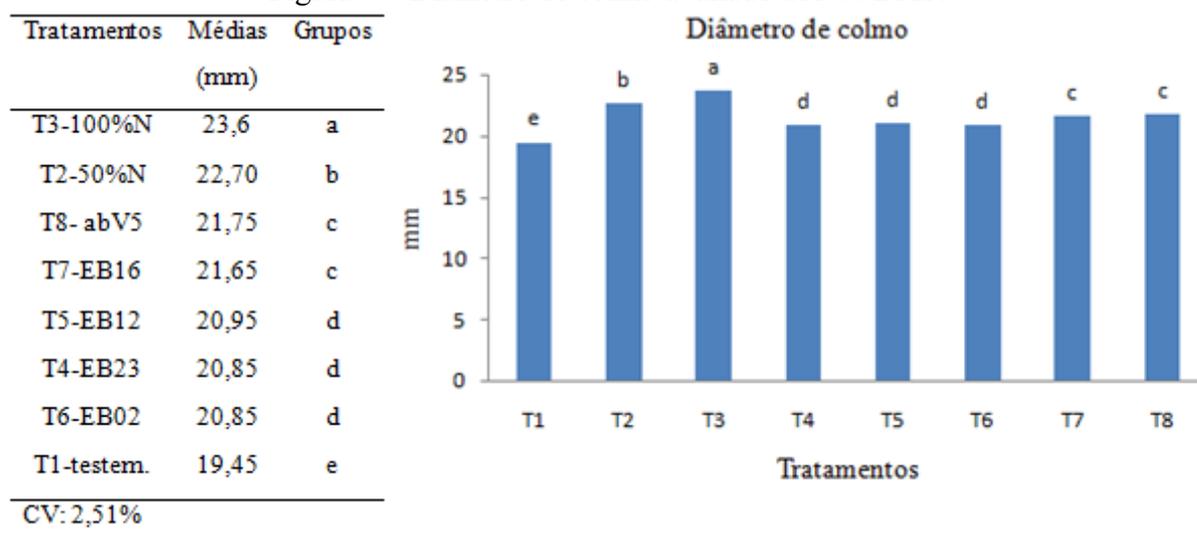
Alguns trabalhos demonstraram que o crescimento do milho pode ser estimulado com a inoculação de Rizobactérias Promotoras de Crescimento Vegetal. Leoncio (2015) observou que tratamentos com os mesmos isolados bacterianos avaliados no presente estudo, obtidos de rizosfera de *Allium sativum* (alho), induziram o crescimento em altura de plantas de milho, sendo estatisticamente superior a testemunha e igual ao tratamento com 100% da dose da adubação de nitrogênio, em casa de vegetação. Em laboratório, a autora avaliou que 81,5 % e 66,6% dos isolados realizaram a síntese de AIA (ácido indol acético) e solubilizaram fosfato *in vitro*, respectivamente. Esses mecanismos de indução podem ter auxiliado no resultado encontrado no crescimento em altura no milho.

Araújo (2008) constatou que a inoculação no milho de *Bacillus subtilis* (estirpe PRBS-1) não diferiu estatisticamente da testemunha na altura da planta. Porém, a associação de *Bacillus subtilis* com farinha de ostras elevou significativamente a altura. Algumas RPCVs têm potencial de solubilização de fósforo e a farinha de ostras possui alto teor de fósforo em sua composição, fator que pode ter contribuído para o incremento observado.

4.3 DIÂMETRO DE COLMO

Houve diferença significativa entre os tratamentos (figura 8). Ocorreu à formação de cinco grupos estatísticos e todos os tratamentos contendo inoculação foram superiores a testemunha, semelhante ao observado em altura de plantas. Na avaliação de diâmetro de colmo, dentre os tratamentos sem aplicação exógena de nitrogênio os que se destacaram foram T7 (EB16) e T8 (abV5), ambos apresentaram médias inferiores aos tratamentos com 50% de N (T2) e 100% de N (T3), mas foram superiores ao T4 (EB23), T5 (EB12) e T6 (EB02).

Figura 8 – Diâmetro de colmo avaliado aos 88 DAS.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5% de significância. T1 - testemunha; T2 - 50% da dose de nitrogênio; T3 - 100% da dose de nitrogênio; T4 - *Bacillus* sp. EB23; T5 - *Bacillus* sp. EB12; T6 - *Bacillus* sp. EB02; T7 - *Bacillus* sp. EB16; T8 - estirpe padrão de *Azospirillum brasilense* abV5.

O diâmetro de colmo tem expressiva importância para a cultura, pois diâmetros menores elevam o índice de acamamento, dificultando a colheita do milho. Neste sentido, o transporte de nutrientes e armazenamento de assimilados é favorecido pelo diâmetro mais elevado, influenciando na produtividade (KAPPES *et al.*, 2011).

O tratamento com inoculação do isolado EB16 possibilitou o incremento de 11,13% no diâmetro de colmo, quando comparado com o tratamento testemunha. No trabalho do Balbinot (2018), observou-se que o tratamento com o isolado EB16 não diferiu estatisticamente dos tratamentos com adubação de nitrogênio, demonstrando potencial para auxílio no crescimento vegetativo.

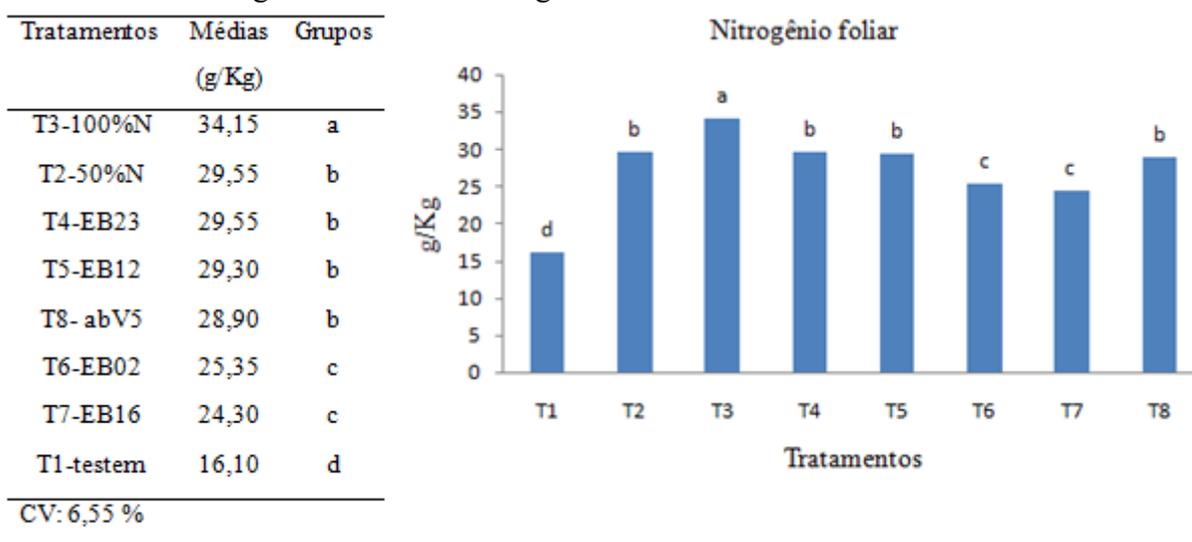
Modena (2018) demonstrou que, na mesma área experimental, RPCV têm capacidade para incrementar o diâmetro de colmo. O autor observou que o isolado CBSAL02, pertencente ao gênero *Pseudomonas* fluorescente, associado a 50% da dose de nitrogênio

apresentou 24,94 mm de diâmetro, média semelhante ao tratamento com 100% da dose de nitrogênio (24,52 mm).

4.4 NITROGÊNIO FOLIAR

Na análise de nitrogênio foliar as médias diferenciaram em quatro grupos estatísticos (Figura 9), sendo o grupo “a” com as médias mais altas, composto por apenas o T3 (100% de N), seguido do grupo “b” constituído por T2 (50% de N), T4 (EB23), T5 (EB12) e T8 (abV5). Os tratamentos T6 (EB02) e T7 (EB16) compõem o grupo “c” e a testemunha (T1) constituiu o grupo “d”. Observou-se que todos os tratamentos apresentaram médias superiores à testemunha.

Figura 9 – Teor de nitrogênio foliar avaliado aos 92 DAS.



Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5% de significância. T1 - testemunha; T2 - 50% da dose de nitrogênio; T3 - 100% da dose de nitrogênio; T4 - *Bacillus* sp. EB23; T5 - *Bacillus* sp. EB12; T6 - *Bacillus* sp. EB02; T7 - *Bacillus* sp. EB16; T8 - estirpe padrão de *Azospirillum brasilense* abV5.

A inoculação com o isolado EB23 incrementou em 83,54% o teor de N foliar comparado com a testemunha (T1), demonstrando capacidade em elevar a absorção de N. A análise foliar de nitrogênio possibilita avaliar o estado nutricional das plantas, sendo a faixa de normalidade para o teor de nitrogênio foliar entre 27 a 35 g de nitrogênio por Kg de biomassa foliar. Observa-se que o T1 (testemunha), T6 (EB02) e T7 (EB16) obtiveram baixo teor de nitrogênio foliar (RAIJ *et al.*, 1996). Porém, os isolados EB02 e EB16 apresentaram,

respectivamente, incremento de 57,45% e 50,93% de N foliar em relação à testemunha, sugerindo mecanismos de indução como FBN e/ou produção de AIA.

Não se atribuiu o aumento do teor de nitrogênio dos tratamentos T4 (EB23), T5 (EB12) e T8 (abV5) apenas à capacidade de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN), mas também, considerou-se a possibilidade de síntese e liberação de substâncias que auxiliam no crescimento radicular, facilitando o acesso ao nitrogênio presente no solo. Os isolados EB23 e EB12 produziram AIA e solubilizaram fosfato *in vitro* (BALBINOT *et al.*, 2020) e o *A. brasilense* apresenta notória capacidade de produção de AIA (PEDRINHO *et al.*, 2010).

Trabalhos demonstraram que isolados de RPCVs possuem capacidade de produzir AIA. Leoncio (2015) isolou as bactérias utilizadas neste estudo que foram provenientes da rizosfera de alho e observou que 81,5 % desses possuía capacidade de síntese de Ácido-Indol-Acético (AIA). Ribeiro *et al.* (2014) e Andrade (2012) observaram a produção de AIA em bactérias pertencentes ao gênero *Bacillus*. O AIA faz parte da classe das auxinas, sendo um regulador de crescimento vegetal e tem capacidade de promover o crescimento do sistema radicular (CENTELLAS *et al.* 1999).

Balbinot (2018), em seu trabalho observou que os tratamentos com inoculação dos isolados avaliados no presente estudo, pertencentes ao gênero *Bacillus* sp., e tratamentos com adubação de nitrogênio mineral, não diferenciaram entre si no teor de N foliar, ou seja, os isolados se compararam aos tratamentos com adubação de N.

Araujo (2008), Modena (2017), e Zamariolli e Galvão (2012, apud BALBINOT, 2018) observaram a elevação do teor de nitrogênio foliar em plantas de milho por consequência da inoculação de RPCV. No trabalho realizado por Araujo (2008) foi demonstrado que a inoculação do milho por *Bacillus subtilis* (estirpe PRBS-1) associado com farinha de ostras possibilitou o incremento no teor de nitrogênio foliar. Modena (2017) constatou que a inoculação do tratamento com o isolado CBSAL02 de *Pseudomonas* fluorescente com a adubação de 100% da dose de N resultou em incremento de 4,82 g/Kg de nitrogênio foliar em comparação com o tratamento com 100% da adubação nitrogenada e sem inoculação. Zamariolli e Galvão (2012, apud BALBINOT, 2018) observaram que a inoculação da *A. brasiliense* em plantas do milho elevaram o teor de nitrogênio foliar, demonstrando o potencial da bactéria.

4.5 NÚMERO DE GRÃOS POR FILEIRA, FIELIRAS POR ESPIGA E DIÂMETRO POR ESPIGA

Os tratamentos apresentaram diferença estatística em relação ao número de grãos por fileira, número de fileiras por espiga e diâmetro por espiga (Tabela 3).

Tabela 3 – Número de grãos por fileira, fileiras por espiga e diâmetro por espiga.

Tratamentos	Número de grãos por fileira	Número de fileiras por espiga	Diâmetro por espiga
T1-testem	16,65 b	12 c	33,55 d
T2-50%N	27,2 a	15,5 a	50,15 a
T3-100%N	30,05 a	15,3 a	50,70 a
T4-EB23	18,75 b	13,4 b	34,15 d
T5-EB12	17,55 b	13,9 b	33,80 d
T6-EB02	18,85 b	14 b	40,95 b
T7-EB16	18,85 b	14 b	40,25 b
T8- abV5	20,3 b	13,6 b	39,25 c
CV:	11,36%	3,55 %	2,15 %

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5% de significância. T1 - testemunha; T2 - 50% da dose de nitrogênio; T3 - 100% da dose de nitrogênio; T4 - *Bacillus* sp. EB23; T5 - *Bacillus* sp. EB12; T6 - *Bacillus* sp. EB02; T7 - *Bacillus* sp. EB16; T8 - estirpe padrão de *Azospirillum brasilense* abV5.

O número de grãos por fileira tem significativa contribuição para a produtividade final. Na análise de número de grãos por fileiras nas espigas, os tratamentos T2 (50%) e T3 (100%) atingiram as maiores médias, diferindo estatisticamente dos demais (Tabela 3). A adubação com dose cheia de nitrogênio não proporcionou diferença significativa do tratamento com 50% da dose de nitrogênio.

Observou-se que 100% da dose de N possibilitou o incremento de 37,17% em relação ao tratamento com o isolado EB02 (T6). No trabalho do Balbinot (2018), o autor constatou que o mesmo isolado não diferiu estatisticamente dos tratamentos com adubação nitrogenada, divergindo do observado. Desse modo, pode-se verificar variação nos resultados, necessitando de outros ensaios experimentais para observar seu comportamento.

Alguns trabalhos demonstraram o potencial de RPCV em elevar o número de grãos por fileira. Modena (2019) constatou que a inoculação de isolados do gênero *Pseudomonas* (CBSAL21, CBSAL02 e CBSAL05) associados com 50% da dose de nitrogênio tiveram

efeito estatisticamente semelhante ao tratamento com 100% da dose, em relação ao número de grãos por fileira na espiga, demonstrando potencial dos isolados.

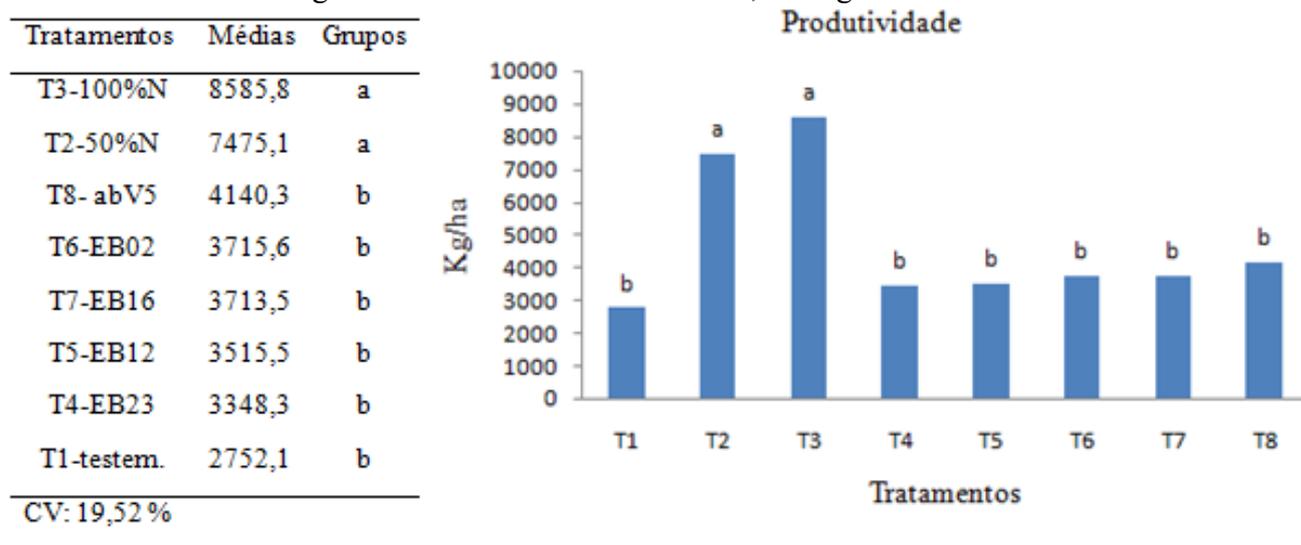
Em relação ao número de fileiras por espiga os tratamentos diferiram em três grupos estatísticos. Os tratamentos T2 (50% de N) e T3 (100% de N) atingiram as maiores médias, diferiram dos demais e a testemunha atingiu as menores médias.

Balbinot 2018 inoculou os isolados testados no presente trabalho e os tratamentos não se diferenciaram estatisticamente. Ou seja, todos os isolados se assemelharam aos tratamentos com adubação de N e a testemunha.

O diâmetro de espiga está relacionado ao número de fileiras, pois quanto maior o diâmetro existe mais espaço para o crescimento de grãos em seu perímetro. Com relação ao diâmetro de espiga, os tratamentos com adubação de N atingiram as maiores médias, seguidos do outro grupo estatístico representado pelos T6 (EB02) e T7 (EB16), e ambos diferiram estatisticamente do T8 (abV5). Os tratamentos representantes do menor grupo estatístico foram T1 (testemunha), T4 (EB23) e T5 (EB12). Notou-se que a inoculação com o isolado EB02 apresentou 22,06% de incremento médio em relação à testemunha. No segundo maior grupo estatístico estão inseridos os isolados EB02 e EB16. Balbinot (2018) observou que esses isolados atingiram o maior grupo estatístico e não diferiram dos tratamentos com adubação de nitrogênio, demonstrando o potencial dos isolados para essa característica agrônômica

4.6 PRODUTIVIDADE

Na análise de produtividade, os tratamentos se diferenciaram em dois grupos estatísticos, o grupo “a” foi constituído pelos tratamentos com adubação de N e no grupo “b” estão inseridos os demais (Figura 10).

Figura 10– Produtividade da cultura, em Kg ha⁻¹.

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5% de significância. T1 - testemunha; T2 - 50% da dose de nitrogênio; T3 - 100% da dose de nitrogênio; T4 - *Bacillus* sp. EB23; T5 - *Bacillus* sp. EB12; T6 - *Bacillus* sp. EB02; T7 - *Bacillus* sp. EB16; T8 - estirpe padrão de *Azospirillum brasilense* abV5.

Referente à produtividade, as médias diferiram em apenas dois grupos estatísticos, os tratamentos com adubação nitrogenada atingiram as maiores médias e sem diferença estatística entre si, mas diferiram dos demais tratamentos. Neste trabalho, a inoculação dos isolados testados não apresentou incremento significativo na produtividade. Entretanto, os mesmos isolados no trabalho desenvolvido por Balbinot (2018) apresentaram resultados significativos. Balbinot (2018) constatou que os tratamentos com os isolados EB02 e EB16 não diferiram estatisticamente do tratamento com 50% da dose de nitrogênio. Em sua pesquisa comparou o incremento de produtividade adquirido por EB02 em relação à testemunha, atingindo 24,7%.

Lima (2011) realizou a inoculação de *Bacillus subtilis* na cultura do milho, onde também testou o efeito da inoculação com adubação de nitrogênio em diferentes doses (0 ; 40; 80; 120 e 160 Kg ha⁻¹). Constatou que a inoculação contribuiu para elevar a produtividade no tratamento com 120 Kg ha⁻¹ de nitrogênio e nos outros, não apresentaram incremento significativo.

Modena (2019) constatou que a inoculação com RPCV pertencente ao gênero *Pseudomonas* associadas com 100% da adubação nitrogenada resultou no incremento de produtividade para a cultura do milho quando comparado ao tratamento com 100% da adubação nitrogenada sem inoculação. Foi observado o incremento de até 1.854,41 Kg/ha com a inoculação do isolado CBSAL21. Zucareli (2011) também observou que a inoculação

com *P. fluorescens* associada à adubação nitrogenada possibilitou o incremento de produtividade na cultura no milho, quando comparado com o tratamento com adubação nitrogenada e sem inoculação.

Os isolados utilizados no presente trabalho apresentaram resultados semelhantes a testemunha, nesse parâmetro, e inferior aos tratamentos com adubação de N. Fica evidente a necessidade de outros estudos, correlacionando a inoculação dos isolados com associação a diferentes doses de nitrogênio.

5 CONCLUSÃO

Para o teor de nitrogênio foliar, os isolados EB23, EB12 e a estirpe abV5 de *A. brasiliense* se assemelharam estatisticamente ao tratamento com 50% da dose de nitrogênio recomendada para a cultura. Em relação à massa seca da parte aérea, o tratamento com inoculação de EB23 foi tão eficiente quanto o tratamento com 100% de nitrogênio. O isolado EB16 alcançou médias superiores à testemunha quanto ao diâmetro de espiga, ao número de fileiras por espiga, ao teor de nitrogênio foliar, ao diâmetro de colmo e à altura de planta. Os isolados de *Bacillus* sp. EB23, EB12, EB16 e *A. brasiliense* abV5 demonstraram eficiência como promotores de crescimento para milho, evidenciando a necessidade de novos estudos.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, L. F. **Bactérias endofíticas de bananeira "prata-anã": fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato de cálcio e produção de ácido indol-3-acético.** 2012.
- ARAUJO, F. F. de. ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p.456-462, abr. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n2/17.pdf>>. Acesso em: 07 abr. 2019.
- BALBINOT, W. G. **INOCULAÇÃO DE Bacillus sp. NA CULTURA DO MILHO (Zea mays L.) COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO.** 2018. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.
- BALBINOT, W. G.; RODRIGUES, S.; BOTELHO, G. R. Isolates of *Bacillus* sp. from garlic: effect on corn development and plant growth-promoting mechanisms. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, *in press*, Curitibanos, jun. 2020.
- BARROS, V. R. M. de; PANETTA, J. C. **Estudo de fatores de patogenicidade de Bacillus spp isolado em leite UHT.** 2004. 116 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- BARUQUI, A. M. *et al.* Atributos diagnósticos. In: BARUQUI, A. M. *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos.** 2. ed. Brasília: Embrapa, 2006. Cap. 1. p. 33-44.
- BATISTA, B. D. **Promoção de crescimento em milho (Zea mays L.) por rizobactérias associadas á cultura do guaranzeiro (Paullinia cupana var. sorbilis).** 2012. 129 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências, Universidade de São Paulo, Pseudomonas, Azospirillum, Bacillus, 2012.
- BRASIL, E. C. *et al.* Matéria seca e acúmulo de nutrientes em genótipos de milho contrastantes quanto a aquisição de fósforo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p.704-712, jun. 2007.
- BROCH, D. L.; RANNO, S. K. Fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura do milho safrinha, in: **Tecnologia e Produção: Milho Safrinha** 2012. Fundação MS, Maracaju-MS, 2012b. p. 3-28.
- Carvalho NM, Nakagawa J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p
- CENTELLAS, A. Q.; FORTES, G. R. L.; MULLER, N. T. G.; GOTTINARI, R. A. Efeito de auxinas sintéticas no enraizamento in vitro da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 2, p 181-186, fev. 1999.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Início da colheita de milho confirma recorde de 250,5 milhões de t na produção total de grãos.** 2020. Disponível em: [https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3446-inicio-da-colheita-de-milho-](https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/3446-inicio-da-colheita-de-milho)

confirma-recorde-de-250-5-milhoes-de-t-na-producao-total-de-graos#:~:text=O%209%C2%BA%20Levantamento%20da%20Safr,o%20colhido%20em%202018%2F19.. Acesso em: 29 out. 2020.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA**. 6. ed. Brasília, 2019. 69 p.

DATTA, M., BANIK, S., GUPTA, K. Studies on the efficacy of a phytohormone producing phosphate solubilizing *Bacillus firmus* in augmenting paddy yield in acid soils of Nagaland. **Plant and Soil**, v.69, n.3, p.365-373, 1982.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Brasília, vol.2, p.306, 2006.

FERREIRA, N. C. *et al.* *Bacillus subtilis* melhora a tolerância do milho à salinidade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 8, jul. 2018.

FREITAS, J. R.; BANERJEE, M. R.; GERMIDA, J. J. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biology and Fertility of Soils**, v. 24, p. 358-364, 1997.

FREITAS, S. S. Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Campinas: Instituto Agrônômico, 312p, 2007.

GARCIA, J. C. *et al.* **Aspectos Econômicos da Produção e Utilização do Milho**. Sete Lagoas. Dez, 2006. Disponível em:

<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/producaoutilmilho_000fghw1d5602wyiv80drauenaku42b6.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2019.

GARCIA, R. *et al.* Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a microorganismos promotores de crecimiento vegetal. **Scientia Agropecuaria**, Trujillo, v. 7, n. 3, p. 313-319, jul. 2016. Disponível em <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172016000300004&lng=es&nrm=iso>. Acesso em 26 de março de 2019. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.20>.

GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R., SILVEIRA, E.B.; MESQUITA, J.C.P. Isolamento, seleção de bactérias e efeitos de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 699-703, 2003.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. Trichoderma species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n.1, p. 43- 55, 2004.

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

JUNIOR, B. M. G. **Eficiência de *Bacillus subtilis* no biocontrole de fitopatógenos e promotor de crescimento vegetal**. 2015. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2015. Disponível em:

<<https://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/386/1/Gaspar%20Moreira%20Braga%20Junior%20-%20Disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf>>. Acesso em: 07 abr. 2019.

KAPPES, C.; ANDRADE, JÁ.; ARF, O.; OLIVEIRA AC.; ARF MV & Ferreira JP (2011) **Desempenho de híbridos de milho em diferentes arranjos espaciais de plantas.** *Bragantia*, 70:334-343.

KOKALIS-BURELLE, N.; KLOEPPER, J. W.; REDDY, M.S. Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. *Applied Soil Ecology*, v. 31, p. 91-100, 2006.

KONDOH, M.; HIRAI, M.; SHODA, M. Integrated Biological and Chemical Control of Damping-Off Caused by *Rhizoctonia solani* Using *Bacillus subtilis* IXB14-C and Flutolanil. *Journal Op BkwibncbAndBiobngineerin*. Yokohama, p. 173-177. jan. 2001.

LEONCIO, Mariane da Rosa. **Isolamento e caracterização de rizobactérias do alho (*Allium sativum*) e promoção de crescimento do milho (*Zea mays*).** 2015. 32 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2015.

LIMA, F. F. *et al.* *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, p. 657-661, 2011

MAGALHÃES, P. C. *et al.* **Fisiologia do Milho.** dez, 2002. Disponível em: <<http://docsagencia.cnptia.embrapa.br/milho/circul22.pdf>>. Acesso em: 07 abr. 2019.

MODENA, G. **Inoculação De *Pseudomonas* do grupo fluorescente Como Promotor De Crescimento em milho (*Zea mays* L.).** 2019. 39 f. TCC (Graduação) – Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2019.

NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. **Manual de laboratórios:** Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313 p.

NORMAN, M. J. T.; PEARSON, C. J.; SEARLE, P. G. E. **The ecology of tropical food crops.** 2. ed. Melbourne: Cambridge University Press, 1995. 430 p o início de cada seção deve começar no anverso/frente da folha.

PEDRINHO, E. A. N. *et al.* Identificação e avaliação de rizobactérias isoladas de raízes de milho. *Bragantia*, v. 69, n. 4, p. 905-911, 2010.

QUADROS, P. D. *et al.* **Desempenho agrônomico em campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*.** *Revista Ceres*, Viçosa, v. 61, n.2 p. 209-218, mar/abr, 2014.

RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** Campinas: Instituto Agrônomico, 2 ed., p. 285, 1996.

RAMAMOORTHY, V., VISWANATHAN, R., RAGUCHANDER. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*, v.20, n.1, p.1-11, 2001.

REIS, C. S. *et al.* Avaliação da Atividade Antrópica no Rio Guaraguaçu (Pontal do Paraná, Paraná). **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p.389-394, set. 2015.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. **Informações agronômicas**, Potafós, v.103, p.1-19, 2003.

ROCHA, P. M.; SILVINO, E.; MACEDO, G. R. de. **Produção de Surfactina por *Bacillus subtilis* UFPEDA 438 utilizando melão de cana como substrato**. 2017. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/23394/1/PatriciaMariaRocha_DISSERT.pdf>. Acessoem: 07 abr. 2019.

RON, E. Z.; ROSENBERG, E. Minireview: natural roles of biosurfactantes. **Environmeantal microbiology**, v. 3, n.4, p. 229-236, 2001.

SANGOI, L. *et al.* Volatilização de N-NH₃ em decorrência da forma de aplicação de ureia, manejo de resíduos e tipo de solo, em laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 4, p. 687-692, ago. 2003.

SARAVANAKUMAR, D.; SAMIYAPPAN, R. ACC deaminase da resistência salina mediada por *Pseudomonas fluorescens* em plantas de amendoim (*Arachishypogea*). **Journal of Applied Microbiology**, v.102, p.1283-1292, 2007.

SILVA, C. G. M. **Absorção e exportação de macronutrientes em milho transgênico sob dois níveis de investimento em adubação**. 2016. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João Del-rei, Sete Lagoas, 2016.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A. *et al.* **Análise do solo, planta e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 1995. 174 p.

TORO, M.; AZCÓN, R.; BAREA, J. M. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (32P) and nutrient cycling. **Applied and Enviromental Microbiology**, v. 63, n. 11, p. 4408-4412, 1997.

YEH, M. S.; WEI, Y. H.; CHANG, J. S. Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by addition of solid carries. **Biotechnology Progress**, v. 21, p. 1329-1334, 2005.

ZAMARIOLLI, L.E.R.; GALVÃO, M.A.K. **Efeitos de métodos de aplicação do inoculante *Azospirillum brasilense* sobre o acúmulo de nitrogênio e produtividade no milho safrinha**. In: 3º Enc. MAP. Encontro de Mecanização de Agricultura de Precisão. Anais... Pompeia-SP: 2012.

PAULETTI, V. **Nutrientes: teores e interpretações**. Castro, 2004. 86 p.