

UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS – UniEVANGÉLICA
CURSO DE AGRONOMIA

INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilensis* E *Bacillus aryabattai* EM
MILHO SOB ESTRESSE HÍDRICO

Kleber de Souza Caixeta Neto
Lucas Gontijo Candido Silva

ANÁPOLIS-GO
2024

**KLEBER DE SOUZA CAIXETA NETO
LUCAS GONTIJO CANDIDO SILVA**

**INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilensis* E *Bacillus aryabattai* EM
MILHO SOB ESTRESSE HÍDRICO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Evangélica de Goiás -
UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de
Bacharel em Agronomia.

Área de concentração: Fitotecnia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cláudia Fabiana
Alves Rezende

**ANÁPOLIS-GO
2024**

Caixeta Neto, Kleber de Souza / Silva, Lucas Gontijo Candido

Inoculação de *Azospirillum brasilensis* e *Bacillus aryabattai* em milho sob estresse hídrico / Kleber de Souza Caixeta Neto; Lucas Gontijo Candido Silva. – Anápolis: Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA, 2024.
26 páginas.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Cláudia Fabiana Alves Rezende

Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Agronomia – Universidade Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA, 2024.

1. Estresse hídrico. 2. Bactérias promotoras de crescimento 3. Produtividade I. Kleber de Souza Caixeta Neto; Lucas Gontijo Candido Silva II. Inoculação de *Azospirillum brasilensis* e *Bacillus aryabattai* em milho sob estresse hídrico

CDU 504

KLEBER DE SOUZA CAIXETA NETO
LUCAS GONTIJO CANDIDO SILVA

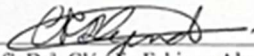
**INOCULAÇÃO DE *Azospirillum brasilensis* e *Bacillus aryabattai* EM MILHO
SOB ESTRESSE HÍDRICO**

Monografia apresentada à Universidade
Evangélica de Goiás – UniEVANGÉLICA,
para obtenção do título de Bacharel em
Agronomia.

Área de concentração: Fitotecnia

Aprovada em: 28 de novembro de 2024

Banca examinadora



Prof.^a Dr.^a Cláudia Fabiana Alves Rezende
UniEvangélica
Presidente



Prof. Dr. Lucas Markezan Nascimento
UniEvangélica



Prof. Me. Anderson Umbelino
UniEvangélica

Dedicamos este trabalho aos nosso pais, amigos e companheiros que foram nosso suporte durante toda esta jornada e acreditaram no nosso potencial.

Kleber de Souza Caixeta Neto e Lucas Gontijo
Candido Silva

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me acompanharam até aqui. Em especial aos meus familiares que me apoiaram até aqui e que me deram forças desde o início desta jornada.

Agradeço também a professora Cláudia, pela paciência em me orientar e ser suporte tanto durante minha trajetória acadêmica quanto na execução e escrita deste trabalho.

Kleber de Souza Caixeta Neto

Agradeço primeiramente a Deus e em seguida aos meus familiares, em especial aos meus pais que sempre me apoiaram e me ajudaram e ao meu padrinho, o grande incentivo para que eu cursasse agronomia.

Agradeço também aos meus amigos, que tornam essa caminhada mais leve.

Finalizo agradecendo aos meus professores, pela parceria que foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Lucas Gontijo Candido Silva

“Os homens semeiam na terra o que colherão na vida espiritual: os frutos da sua coragem ou da sua fraqueza”.

Allan Kardec

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1. ASPECTOS FITOTÉCNICOS DA CULTURA	10
2.2. ESTRESSE HÍDRICO NO MILHO	11
2.3. USO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM MILHO	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA	15
3.2 DESCRIÇÃO DOS MATERIAIS UTILIZADOS	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
5. CONCLUSÃO.....	21
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

RESUMO

A cultura do milho enfrenta desafios significativos, como estresse hídrico, que pode resultar em perdas de rendimento consideráveis. Para lidar com esses desafios, as bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs) como o *Azospirillum brasilense* e *Bacillus aryabhattai*, têm o potencial de melhorar o desenvolvimento inicial do milho, aumentando a resistência ao estresse hídrico e promovendo o crescimento das plantas. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus aryabhattai* no desenvolvimento inicial do milho. Foram utilizados os tratamentos T1: testemunha; T2: Biomax Azum®; T3: Auras®; T4: Biomax Azum® + Auras®. Os parâmetros avaliados foram número de plantas emergidas 5 dias após plantio, comprimento (cm) de plantas aos oito e quinze dias após emergência e diâmetro (cm) do colmo aos oito e quinze dias após emergência. Os tratamentos de maior destaque para o número de plantas emergidas aos cinco dias foi o *B. aryabhattai* e para as demais variáveis de comprimento de planta e diâmetro do colmo, se destacou o tratamento T4, que combinava o *A. brasilense* e o *B. aryabhattai*, evidenciando a sinergia entre estes dois microrganismos.

Palavras-chave: Estresse hídrico. Bactérias promotoras de crescimento. Produtividade.

1. INTRODUÇÃO

O plantio de milho (*Zea mays* L.) no Brasil teve início antes da chegada dos europeus. Antes da colonização, as comunidades indígenas já desenvolviam o cultivo e consideravam o milho como um elemento central em sua alimentação. Com a chegada dos portugueses, houve um aumento no consumo desse grão, e novos produtos derivados de milho foram integrados aos costumes alimentares dos habitantes brasileiros (SOUSA, 2020).

O milho apresenta múltiplas utilidades, destacando sua aplicação tanto na alimentação humana quanto na alimentação animal. Conforme Neculqueo et al. (2021), este grão é responsável por fornecer pelo menos 30% da ingestão calórica diária para mais de 4,5 bilhões de pessoas em 94 países em desenvolvimento, estimando-se que a demanda por esse cereal deverá dobrar até 2050.

No Brasil, a cultura abrangeu uma área plantada de 3,9 milhões de hectares (ha) para a primeira safra, resultando em uma produção de 23 milhões de toneladas (t) para a safra 2023/24. Para a segunda safra, a produtividade foi de 90 mil t, representando um decréscimo de 11% comparado ao mesmo período na safra anterior (CONAB, 2024).

A extensa disseminação do cultivo coloca-o em contato com diversos graus de estresse hídrico e para esta cultura, a ocorrência de secas resulta em uma diminuição de até 15% no rendimento anual, com perdas estimadas em 16 milhões t de grãos (CROSA et al., 2021). O impacto do estresse hídrico imediatamente após o plantio é um dos principais fatores abióticos que afetam significativamente o processo germinativo. Esse estresse interfere diretamente nas atividades enzimáticas da planta, resultando na redução do rendimento das cultivares e causando prejuízos ao produtor (DUARTE, 2023).

Assim, potenciais hídricos muito negativos, especialmente no início da embebição, exercem influência na absorção de água pelas sementes, podendo comprometer a sequência de eventos no processo germinativo (HENRIQUE et al., 2021). Diante dessas circunstâncias e considerando a relevância da água para a germinação de sementes no campo, compreender as respostas fisiológicas das plantas em relação à variação na disponibilidade hídrica torna-se de extrema importância.

Nesse cenário, As Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCPs) são uma alternativa sustentável para reduzir os efeitos de estresses em vegetais. Elas colonizam a rizosfera ou os tecidos internos das plantas, promovendo seu crescimento ao sintetizar fito-

hormônios e substâncias osmorreguladoras, melhorando a absorção de água e nutrientes. (CARVALHO et al., 2019).

Os gêneros *Azospirillum* e *Bacillus* são amplamente estudados e reconhecidos. O *Azospirillum* se destaca pela fixação de nitrogênio e produção de fitormônios (REIS et al., 2022), enquanto o *Bacillus* solubiliza fosfato e protege contra patógenos (SILVA, 2023). No entanto, poucos registros oferecem informações acerca da coinoculação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus aryabhattai* na cultura do milho.

Apesar de ser frequentemente associado a incrementos no desenvolvimento da cultura do milho, o *A. brasilense* não mostrou nenhum efeito no incremento em massa seca da parte aérea no desenvolvimento inicial da cultura, conforme observado por Kmiecik; Mendonça (2019). Em contrapartida, ao avaliar o efeito da inoculação desta bactéria, Coelho et al. (2020) constatou incrementos tanto no peso das plantas quanto na produtividade final da lavoura de milho.

A inoculação com *B. aryabhattai* pode promover maior resistência ao estresse hídrico, beneficiando plantas de milho no processo de germinação, conforme Castro; Silva (2023). Ao avaliarem diferentes doses de um inoculante composto por essa bactéria, os autores relataram que as plantas de milho apresentaram maior porcentagem de germinação, independente da dose de inoculante utilizada, além de apresentarem maiores incrementos de massa fresca de raiz e comprimento de parte aérea.

Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da coinoculação com *Azospirillum brasilense* e *Bacillus aryabhattai* no desenvolvimento inicial do milho.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ASPECTOS FITOTÉCNICOS DA CULTURA

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie pertencente à família Gramineae/Poaceae, originária do teosinto, especificamente da subespécie mexicana (*Zea mays* ssp. mexicana (Schrader) Iltis), há mais de 8.000 anos (CHAVES NETO; BOSCAINI, 2019). Essa cultura é cultivada em diversas regiões do mundo, incluindo os Estados Unidos da América, República Popular da China, Índia, Brasil, França, Indonésia, África do Sul, entre outras (SILVA et al., 2023).

O milho representa o segundo cereal mais produzido no Brasil. Na primeira safra de 2023/2024, a cultura representou uma área de 3.970 mil ha, com uma produtividade de 22.962 mil t. Já para a segunda safra, foram plantados 16.437 mil ha e produzidos 90.255 mil t do grão. Os valores apresentaram uma queda em 2024 para a segunda safra, apresentando uma redução de 4% na área produtiva e 11% na produção em toneladas de grãos. Estas reduções são justificadas pelos impactos causados pelas mudanças climáticas e uma diminuição dos índices pluviométricos durante os períodos das duas safras (CONAB, 2024). Entretanto, conforme a Conab (2024), para a segunda safra 2024/2025 estima-se que o plantio atinja 16.596 mil hectares, uma área 1% superior à cultivada na safra anterior, confirmando a possibilidade de um cenário climático que prejudica o desenvolvimento da cultura.

Sua notável adaptabilidade, representada por uma variedade de genótipos, possibilita seu cultivo desde o Equador até regiões de terras temperadas e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3.600 m (SILVA et al., 2020). Dessa forma, o milho prospera em climas tropicais, subtropicais e temperados. A principal finalidade de seu cultivo é destinada à alimentação humana e animal, devido às suas elevadas qualidades nutricionais (SILVA et al., 2021).

A produção de milho no Brasil ocorre em duas safras durante o mesmo ano agrícola, nomeadamente a 1ª safra (safra do verão) e a 2ª safra (safra de inverno). Comumente, a produção do milho de segunda safra é maior, ao mesmo tempo em que há uma redução na área plantada durante o período da 1ª safra, devido à competição com a soja. Esse declínio na 1ª safra tem sido parcialmente compensado pelo aumento no plantio durante a 2ª safra (CONAB, 2024).

O milho possui um caule do tipo colmo com nós e entrenós, e suas folhas estão distribuídas alternadamente na parte superior do caule. O limbo foliar é largo, comprido e liso, formando um ângulo de 90° com o caule por meio de uma resistente nervura principal

(MORAIS, 2012). O sistema radicular é do tipo fasciculado, atingindo profundidade de 1,5 a 3,0 m, sendo mais superficial até 0,30 m, explicando sua baixa tolerância à deficiência hídrica. Raízes tipo escoras, conhecidas como adventícias, auxiliam na fixação do caule e na absorção de sais minerais (FORNASIERI FILHO, 2017).

O período vegetativo do milho depende dos fatores climáticos, com o florescimento ocorrendo de 5 a 12 semanas após a semeadura, podendo chegar a 10 meses. Em climas temperados com dias longos, o florescimento ocorre mais tardiamente. A fertilização do óvulo acontece de 12 a 36 horas após a polinização, e o desenvolvimento do grão é concluído aproximadamente 60 dias após a fertilização (SILVA et al., 2021). O grão do milho é o fruto de uma semente típica das gramíneas, com endosperma responsável por cerca de 85% da massa do grão, embrião correspondendo a cerca de 10%, e pericarpo com 5%. O endosperma é principalmente constituído por amido, representando 86 a 89% dos carboidratos e 75% das proteínas, com grânulos de amido compostos por 75% de amilopectina e 25% de amilose (BRESOLIN; PONS, 1986).

O ciclo da cultura do milho abrange um período variável de 100 a 180 dias, influenciado pela caracterização dos genótipos (super-precoce, precoce e tardio). Essa duração pode também ser afetada pela temperatura, sendo que em condições de temperaturas superiores a 20°C, as variedades precoces podem apresentar um ciclo de 80 a 110 dias, enquanto as variedades médias podem levar de 110 a 140 dias para atingir a fase de maturação fisiológica (REZENDE et al., 2004).

Empresas privadas e públicas na área agropecuária desenvolvem híbridos com diversas características, incluindo produtividade, cor e textura do grão, uso e finalidade, características de plantio e precocidade, além da relação com as principais doenças e sanidade dos grãos (ZERINGUE et al., 1996). Dentre as principais doenças que afetam a cultura estão a fusariose, cercosporiose, helmintosporiose e o complexo de viroses, estando estes últimos relacionados ao inseto-praga, comumente conhecido como cigarrinha - *Dalbulus maidis* (CASELA et al., 2006).

2.2. ESTRESSE HÍDRICO NO MILHO

A escassez de água é um dos principais desafios enfrentados pela agricultura global, tornando crucial a capacidade das plantas em resistir a esse tipo de estresse para o desenvolvimento sustentável do agronegócio em qualquer nação (SHAO et al., 2008; RUFINO et al., 2012). Devido a sua exigência hídrica para completar os processos fenológicos, o milho

necessita de maiores volumes de água, podendo ter seu crescimento e rendimento afetados negativamente por períodos de limitações hídricas (VIEIRA JÚNIOR et al., 2007).

Os danos causados pela escassez de água estão diretamente relacionados à fase fenológica da cultura em que o déficit hídrico ocorre. Déficits durante o período vegetativo reduzem o crescimento do milho devido à diminuição da área foliar e da biomassa da planta. Quando ocorrem na fase de pré-floração ao início do enchimento de grãos, considerado o período crítico da cultura, podem resultar em significativas reduções de rendimento (BERGAMASCHI et al., 2004; VIEIRA JÚNIOR et al., 2007).

Os efeitos dos estresses abióticos durante o período da safrinha apresentam diferenças em intensidade se comparados aos ocorridos na safra de verão, especialmente em relação à seca e ao frio. Esses estresses tendem a aumentar gradualmente, ao contrário do que ocorre na primeira safra (MAGALHÃES et al., 2007).

O estresse, de maneira geral, é definido como um fator externo que exerce uma influência prejudicial sobre a planta (TAIZ; ZEIGER, 2004). Em grande parte dos casos, a medida do estresse está relacionada à sobrevivência da planta, produtividade agrícola, crescimento (acumulação de biomassa) ou ao processo primário de assimilação (absorção de CO₂ e minerais) (MAGALHÃES et al., 2007).

O conceito de estresse está estreitamente ligado ao de tolerância ao estresse, que representa a capacidade da planta de lidar com um ambiente desfavorável. É crucial considerar a época em que os estresses ocorrem; por exemplo, no ambiente de safrinha, é comum ocorrer frio nos estágios finais de desenvolvimento e seca em vários estágios de crescimento. Portanto, é essencial aplicar conhecimentos sobre a tolerância das plantas a esses estresses com o objetivo de mitigar seus efeitos (MAGALHÃES et al., 2007).

Uma prática essencial para alcançar incrementos de produtividade em situações de estresse na cultura do milho é a aplicação de N durante a semeadura ou nos estágios iniciais do desenvolvimento da cultura (DUARTE et al., 2019; SIMÃO et al., 2020). Em muitas circunstâncias, o momento da aplicação do N é mais crucial do que a quantidade utilizada. Aplicações tardias desse elemento, mesmo em doses elevadas, tendem a não proporcionar resultados tão positivos quanto as aplicações realizadas precocemente, seja no momento da semeadura ou imediatamente após a emissão das primeiras folhas (SIMÃO et al., 2020).

Outra alternativa de manejo para a redução dos impactos causados por estresse hídrico é a inoculação de bactérias promotoras de crescimento das plantas (BPCP), estratégia que tem se destacado como uma ferramenta eficaz em diversas culturas. Essas bactérias, que podem ser

endofíticas, existir livremente no solo ou ser rizobactérias que colonizam a rizosfera, são conhecidas por proporcionar diversos benefícios à agricultura. Entre esses benefícios, destaca-se a promoção de tolerância a estresses bióticos e abióticos (DIAS et al., 2022).

2.3. USO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO EM MILHO

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) são microrganismos que contribuem para o aprimoramento do desempenho das plantas de várias maneiras, como a geração de compostos bioativos, incluindo aminoácidos, hormônios e enzimas (AFZAL et al., 2019). Entre essas bactérias, destacam-se as rizobactérias, que habitam a rizosfera e proporcionam diversos benefícios ao crescimento de espécies vegetais. Essas bactérias influenciam diretamente ou indiretamente o crescimento das plantas, seja pela secreção de hormônios e enzimas, seja facilitando a absorção e acumulação de nutrientes como N e P (AHEMAD; KIBRET, 2014).

A utilização de inoculantes contendo isolados bacterianos pode aumentar as taxas de fixação de N e modificar a atividade das enzimas de assimilação do N (PEREIRA et al., 2019), resultando na redução da demanda por fertilizantes nitrogenados e dos custos de produção. Além da fixação de N, as bactérias associadas ao solo podem aprimorar o estabelecimento das plantas no campo. Por exemplo, promovem o desenvolvimento das plantas através de diversos mecanismos, como a liberação de nutrientes insolúveis (principalmente P e Ferro (Fe)) ou a inibição do desenvolvimento de pragas e patógenos de plantas. Essas bactérias também são capazes de produzir bactericidas, antifúngicos e hormônios vegetais, como auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e ácido abscísico, além de sintetizar fito-hormônios como o ácido indol-3-acético (TURATTO et al., 2018).

As BPCP estão associadas à maioria das espécies vegetais, sendo capazes de estabelecer populações endofíticas nos diferentes tecidos e órgãos das plantas, sem causar sintomas visíveis de sua presença. Contudo, estudos de Panigrahi et al. (2019) sobre a caracterização de bactérias endofíticas, como a *Enterobacter cloacae* MG00145 isolada de *Ocimum sanctum* (manjerição santo) revelaram propriedades de promoção de crescimento múltiplo, incluindo a produção de ácido indol-3-acético (IAA), solubilização de fosfato, produção de sideróforos e amônia.

Dessa forma, o uso de fertilizantes biológicos pode contribuir para a redução da poluição ambiental, o consumo de ureia e a degradação do solo, proporcionando um melhor desempenho

das plantas em condições de estresse e, conseqüentemente, aumentando a produtividade das culturas (DILNASHIN et al., 2020).

Dentre os tipos mais estudados de bactérias diazotróficas, o *Azospirillum* se destaca pelos efeitos positivos no desenvolvimento radicular, absorção de água e nutrientes, além de realizar a fixação biológica de N (FBN) quando associado a gramíneas (QUATRIN et al., 2019). Em pesquisas conduzidas por Aquino et al. (2019) sobre bactérias endofíticas promotoras de crescimento de plantas em milho e sorgo, outra bactéria de destaque foi o *Bacillus subtilis*, com os isolados IPACC26 e IPACC30, demonstraram um efeito mais pronunciado no acúmulo de N no milho.

Os modos de ação das BPCP são diversificados, com mecanismos que incluem mudanças nos níveis hormonais, produção de compostos voláteis e aumento da disponibilidade de nutrientes. Além disso, essas bactérias contribuem para aumentar a tolerância ao estresse hídrico, reduzindo os níveis de etileno nas raízes das plantas em desenvolvimento por meio da hidrólise de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) deaminase (DIMKPA et al., 2009).

Estudos realizados por Kasim et al. (2013), indicam que a presença das BPCP pode estimular a expressão de genes relacionados ao estresse hídrico, promovendo, assim, maior tolerância a condições adversas. Santos et al. (2014) sugerem que as BPCP aumentam a capacidade das plantas, sob restrição hídrica, de realizar o ajustamento osmótico por meio do maior acúmulo de solutos orgânicos, quando comparadas com plantas estressadas e não inoculadas.

Em uma pesquisa conduzida por Kavamura (2012), o milho submetido ao estresse hídrico foi protegido pela linhagem de bactérias *Bacillus* sp (6.2 RZS 3), reduzindo a inibição do crescimento induzida pela seca. De acordo com Dimkpa et al. (2009), além da produção de exopolissacarídeos e biofilme, a proteção do milho contra o estresse hídrico também pode ser conferida pela produção de ácido indol-3-acético (AIA) e óxido nítrico, que aumentam a proliferação radicular, melhorando a capacidade de absorção de água e alterando a elasticidade das membranas celulares para aumentar a tolerância à deficiência hídrica.

A biossíntese da enzima ACCA (aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase) por algumas BPCP, quando a planta está submetida ao estresse, também é uma característica relevante na promoção de crescimento, pois essa enzima atua na redução dos níveis de etileno no solo. O excesso desse hormônio pode prejudicar o desenvolvimento vegetal ou até mesmo resultar na morte da planta (GLICK et al., 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA

A pesquisa em campo foi realizada no município de Anápolis-Goiás, na Unidade Experimental da Universidade Evangélica de Anápolis – UniEvangélica, com as coordenadas 16°19'36"S e 48°27'10"W, com altitude de 1017 metros. A temperatura mínima média é de 18°C e máxima média de 32°C. Segundo Köppen, o clima característico da região é tropical com estação seca durante todo o ano, no inverno o clima é seco e no verão chuvoso (AW).

O experimento foi implantado em um período de 15 dias, de 01 de agosto de 2024 a 16 de agosto de 2024 em copos de 500 ml. A semeadura do milho ocorreu de forma manual.

3.2 DESCRIÇÃO DOS MATERIAIS UTILIZADOS

Foram usados copos de 500 ml, preenchidos com solo peneirado para que não houvesse torrões. O fornecimento de nutrientes para o desenvolvimento inicial das plantas foi estabelecido de acordo com a demanda geral da cultura estabelecida por Malavolta (1979), sendo fornecido 16 kg de N, 120 kg P₂O₅ e 40 kg de K₂O, por hectare. Foi utilizado o adubo formulado 4-14-8, sendo adicionados 0,8 g em cada copo. Após a adubação foi colocada mais uma camada de 5,0 cm de solo para distribuição das sementes e assim não ficarem em contato direto com o adubo. Como a avaliação em questão se trata do desenvolvimento inicial das plantas, não fez necessário a aplicação de adubação de cobertura.

Na execução do experimento foi utilizado o híbrido comercial AG 8480 desenvolvido pela Agrocere®. Sementes de milho que garantem 12.000 kg ha⁻¹ rendimento, sendo o híbrido recomendado para a região.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e doze repetições sendo que cada repetição equivale a um copo com três sementes cada, para obtenção de um maior número de amostras. Sendo cada semente considerada uma pseudorepetição. Os tratamentos foram assim divididos: T1: testemunha; T2: Biomax Azum® (*Azospirillum* 3,0 ml Kg⁻¹ semente); T3: Auras® (*Bacillus aryabhattai* 4,0 ml Kg⁻¹ semente); T4: Biomax Azum® (*Azospirillum* 3,0 ml Kg⁻¹ semente) + Auras® (*Bacillus aryabhattai* 4,0 ml Kg⁻¹ semente).

As sementes foram colocadas em sacos plástico individualizados por tratamento para que ocorresse o tratamento de sementes (TS) na dosagem especificada com auxílio de uma

seringa. Logo após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram distribuídas nos copos. As plantas receberam irrigação com 150 ml de água por copo, sempre que necessário.

O produto utilizado como inoculante foi o Auras® da fabricante Nooa®, cuja composição é *B. aryabhatai* (1×10^8 UFC/mL), que possui prescrição de aplicação na cultura da soja de $0,2 \text{ L ha}^{-1}$, em aplicações de tratamento de sementes a aplicação recomendada é 80 ml para 60.000 sementes de milho. O *A. brasilense* utilizado foi o inoculante Biomax Azum® (3×10^8 UFC/mL), da fabricante Vittia®, na dosagem de recomendação de 100 ml para cada 50 kg de sementes.

A germinação ocorreu após cinco dias a semeadura do milho, sendo que as coletas de dados de desenvolvimento morfológico das plantas foi realizado aos 8 e 15 dias após a emergência (DAE), aproximadamente no estágio V4. Nesta fase as plantas foram coletadas para avaliação final. Foram utilizados como parâmetros de avaliações a altura da planta (cm) e o diâmetro de colmo (mm). A altura foi avaliada com o auxílio de uma fita métrica (cm) medindo-se da base (solo) ao topo da planta. O diâmetro foi avaliado com o auxílio de um paquímetro (mm), medido acima do solo no segundo nó do colmo.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando ocorreram diferenças significativas, identificadas pelo teste F ($P < 0,05$), se aplicou o teste de médias de Tukey, utilizando-se programa estatístico Sisvar, versão 5.6 (FERREIRA, 2014).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável germinação, não houve diferença entre o tratamento testemunha e o tratamento *B. aryabhatai* (Figura 1). O tratamento que combinou o *Azospirillum* e a bactéria, apresentou resultado superior para o *Azospirillum* isolado para o número de plantas emergidas aos cinco dias.

Os resultados encontrados neste trabalho para a germinação se assemelham as observações feitas por Ferreira et al. (2021) ao avaliarem o efeito de diferentes cepas de *Bacillus* no tratamento de *Fusarium verticillioides* em plantas de milho, onde as cepas de *B. aryabhatai* não interferiram na germinação das plantas. Oliveira et al. (2024), ao avaliarem o IVG de sementes de milho inoculadas com diferentes espécies de *Bacillus* combinadas entre si ou consorciadas com *Azospirillum brasilense* observaram que esse consorcio entre microrganismos não interferia no processo de germinação.

Uma maior velocidade de emergência pode conferir ao dossel vantagens no aproveitamento de água, luz e nutrientes, iniciando o processo fotossintético de forma antecipada, o que favorece tanto o crescimento da parte aérea quanto do sistema radicular (PANOZZO et al., 2009). Quanto mais rapidamente ocorre a germinação das sementes e a emergência das plântulas, menos tempo estas permanecem sob condições adversas, passando pelos estágios iniciais de desenvolvimento de forma mais rápida (MARTINS et al., 1999).

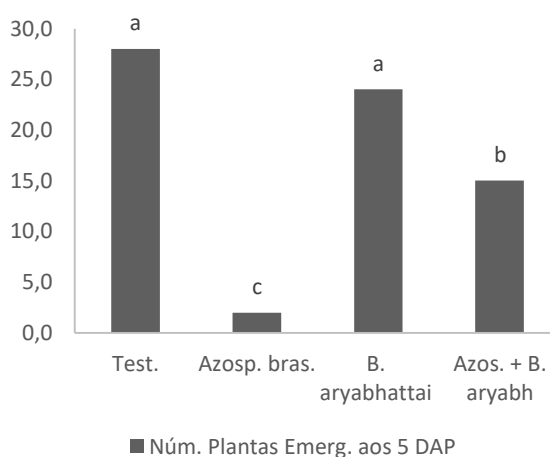


Figura 1. Número de plantas de milho emergidas cinco dias após plantio, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento de plantas, de forma isolada ou combinados.

Para as variáveis altura de plantas aos oito e quinze dias após emergência, observou-se que o melhor tratamento em ambos os casos foi o consorcio entre *B.aryabhatai* e *A. brasilense*,

que obtiveram médias 31,5% e 19% superiores as medias encontradas para a testemunha, respectivamente (Figura 2). Aos 8 DAE, estes tratamentos foram seguidos do *B. aryabhattai* que apresentou um incremento de 14% comparado a testemunha e *A. brasilense*, com 4% de incremento da testemunha. Já aos 15 DAE estes últimos tratamentos não diferiram entre si, com um incremento de 4% comparados a testemunha.

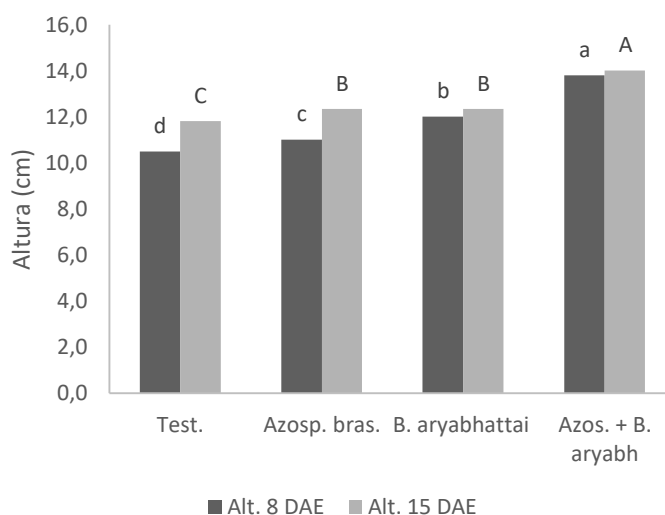


Figura 2. Altura de plantas de milho aos oito e 15 dias após emergência, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento de plantas, de forma isolada ou combinados.

Gerling (2024) observou que a inoculação de *B. aryabhattai* consorciado ao *B. japonicum* afetou positivamente na altura de plantas de soja, enquanto para plantas inoculadas com o consorcio de *A. brasilense* e *B. japonicum* não se observou o mesmo incremento. Em contrapartida, ao avaliar a interferência de bactérias, fungos e micorrizas no crescimento de plantas de milho, Antonio (2023) não encontrou diferença estatística para nenhum dos tratamentos aos 72 dias após emergência. Carvalho (2023) ao avaliar a inoculação dos mesmos microrganismos deste trabalho em plantas de soja, também não encontrou relação entre os microrganismos sejam isolados ou consorciados para a variável altura de plantas.

Os benefícios observados pelo uso da combinação de *Bacillus* e *Azospirillum* encontrados neste trabalho estão possivelmente relacionados às suas características promotoras de crescimento vegetal (Ahmad et al., 2021), incluindo a capacidade de produzir compostos que estimulam o desenvolvimento das plantas, como fitormônios (KAVAMURA et al., 2012), além de maior disponibilização de nutrientes (XI; YE, 2020; SHARMA et al., 2013) e produção de sideróforos (SILVA, 2023).

Algumas cepas de *B. aryabhatai* são capazes de sintetizar fitormônios, como giberelinas (Silva et al., 2019) e auxinas (LEE et al., 2012). As giberelinas desempenham um papel essencial no desenvolvimento das plantas, promovendo o alongamento celular (LEE et al., 2013). Auxinas, por sua vez, estimulam o desenvolvimento radicular, aumentando a capacidade da planta de absorver água (KAVAMURA, 2012) e nutrientes do solo (Ahmad et al., 2014), favorecendo o crescimento da planta (WANG et al., 2015), o que pode justificar os resultados encontrados neste trabalho.

Para a variável diâmetro, o tratamento que consorciou o *A. brasilense* + *B. aryabhatai* se destacou tanto aos oito quanto aos quinze dias após emergência, apresentando médias acima da testemunha na ordem de 16,6% e 9,5%, respectivamente (Figura 3). Não foi observada diferença entre os tratamentos que utilizaram os microrganismos isolados para esta variável.

Essa diferença observada entre os tratamentos onde ocorreu consorcio de microrganismos (*A. brasilense* + *B. aryabhatai*) e microrganismos isolados pode ser atribuída à interação sinérgica entre os microrganismos presentes quando microrganismos são combinados. Esses microrganismos podem atuar de maneira complementar, amplificando os efeitos benéficos sobre as plantas, conforme descrito por Galindo et al. (2018) ao estudar a coinoculação de *Bradyrhizobium sp.* e *Azospirillum brasilense* na soja.

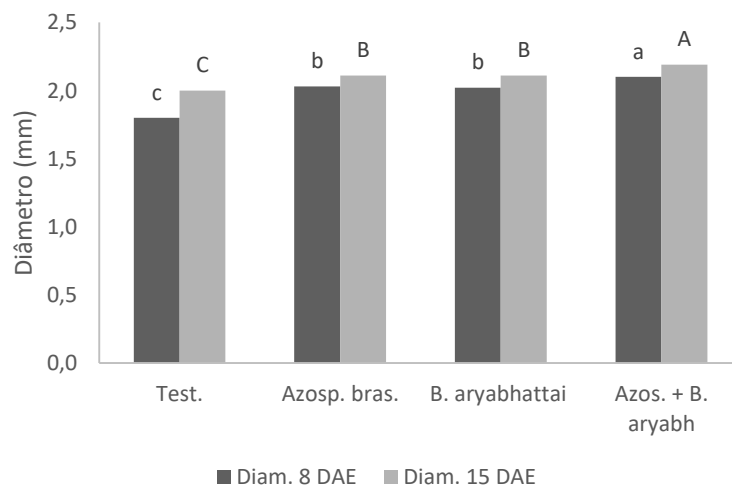


Figura 3. Diâmetro do colmo de milho aos oito e 15 dias após emergência, inoculadas com microrganismos promotores de crescimento de plantas, de forma isolada ou combinados.

Ao integrar esses microrganismos em um único tratamento, seus efeitos positivos podem ser maximizados. *Azospirillum*, por exemplo, fixa nitrogênio atmosférico, fornecendo

nutrientes adicionais às plantas e promovendo maior desenvolvimento de raízes e parte aérea, o que favorece o crescimento vegetal. Por outro lado, *Bacillus* está associado à produção de substâncias antimicrobianas, auxiliando na proteção das plantas contra patógenos, além de promover o crescimento das raízes e da parte aérea (MELO et al., 2015).

Nos tratamentos isolados, a presença de apenas um dos microrganismos pode não ser suficiente para promover respostas visíveis tão expressivas no crescimento do colmo das plantas de milho (CARVALHO, 2023). Assim, a diferença observada na Figura 3 entre o tratamento consorciado e os isolados pode ser atribuída à interação sinérgica entre os microrganismos presentes nos tratamentos que combinou *A. brasilense* e *B. aryabhattai*, o que resulta em um efeito mais benéfico para o crescimento e desenvolvimento das plantas de milho.

5. CONCLUSÃO

A combinação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus aryabhattai* promoveu efeitos positivos no desenvolvimento inicial das plantas de milho. A combinação destes microrganismos afetou positivamente todas as variáveis avaliadas, refletindo o potencial de sinergia entre essas espécies.

Esses resultados reforçam a importância de explorar consórcios microbianos como uma alternativa sustentável para melhorar o desempenho agrônômico das culturas, particularmente em sistemas que visam à redução do uso de insumos químicos e ao incremento da produtividade de forma sustentável. Pesquisas adicionais são necessárias para avaliar os efeitos a longo prazo e em diferentes condições ambientais, contribuindo para a recomendação segura do uso desses microrganismos na cultura do milho.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFZAL, I., SHINWARI, Z. K., SIKANDAR, S., & SHAHZAD, S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v.221, p.3649, 2019.

AHEMAD, M., & KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University Science**, v.26, n.1, p.1-20, 2014.

AQUINO, J. P. A. D., MACEDO JUNIOR, F. B. D., ANTUNES, J. E. L., FIGUEIREDO, M. D. V. B., ALCÂNTARA NETO, F. D., & ARAUJO, A. S. F. D. Bactérias endofíticas promotoras de crescimento de plantas em milho e sorgo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.49, p.19, 2019.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. I.; BIANCHI, C. A. M.; MÜLLER, A. G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B. M. M. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, n. 9, p. 831-839, 2004.

BRESOLIN, M., PONS, A. L. **Botânica do milho**. IPAGRO informa, 26, 69 – 72. 1983.
CARVALHO, C. G., VELLOSO, C. C. V., TEMPONI, B., GODINHO, V., RIBEIRO, V. P., DE OLIVEIRA PAIVA, C. A., ... DE SOUSA, S. M. **Efeito de promotores de crescimento bacterianos em plântulas de milho crescidas em cultivo hidropônico com estresse induzido por polietilenoglicol**. In: XIV Seminário de Iniciação Científica PIBIC/CNPq. 2019.

CARVALHO, Rúbia Catharina da Silva. **Co-inoculação com microrganismos promotores de crescimento de plantas no desenvolvimento e produtividade da soja**. 2023.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. da S.; PINTO, NFJ de A. Doenças na cultura do milho. Circular Técnica. Embrapa, 2006.

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

COELHO, S. P., GALVÃO, J. C. C., GIEHL, J., DE JESUS, É. V., MENDONÇA, B. F., DE ALMEIDA CAMPOS, S., ... CECOM, P. R. *Azospirillum brasilense* increases corn growth and yield in conventional low input cropping systems. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 36, n. 3, p. 225-233, 2021.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Safra 2023/24 5º Levantamento. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos> > . Acesso em 04 de março de 2024.

CROSA, C. F. R., ORTIZ, A. C., FELIPEZ, W. Germinação e desenvolvimento de sementes de dois híbridos de milho sob estresse hídrico. **Revista Científica Rural**, v. 23, n. 1, p. 110-123, 2021.

DIAS, K. C. F. P., DA SILVA SOUZA, I. J., DINAS, S. S. E., OLIVEIRA, M. C. B., FERREIRA, V. Q., BARROS, Y. C., DE JESUS SANTOS, A. F. Proteção para a cultura de milho contra a seca mediada por bactérias da Caatinga. **Agrometeoros**, v. 30, 2022.

DILNASHIN, H. et al. Applications of agriculturally important microorganisms for sustainable crop production. In: Sharma, V.; Salwan, R.; Khalil, L.; AlAni, T. (Eds.). *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*, Índia: **Academic PressElsevier**, 2020. p.403415.

DIMKPA, C. et al. Plantrhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell and Environment**, Germany, v.32, n.1, p.16821694, 2009.

DUARTE, A. P. Adubação do milho-safrinha em sucessão à soja. In: ABREU, D. C.; DIAS, M. P. L.; BOSCOLI, D. Z.; SILVA, W. M.; ALBERTO, F. P.; MARTINS, A. R. R.; PINHEIRO, D. T. (Ed.). *Vitrine tecnológica agrícola, 3. Atualidades na cultura do milho em sistema soja e milho-safrinha*. Cuiabá: Uniselva, 2022. p. 15-33.

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.

FERREIRA, T. C.; LAGO, L. D.; SILVA, L. G.; PACIFICO, M. G.; FARIA, M. R. D.; BETTIOL, W. Potential of *Bacillus* spp. for growth promotion and *Fusarium verticillioides* control in corn. **Summa Phytopathologica**, v. 47, p. 195-203, 2022.

FORNASIERI FILHO, D. (2007). Manual da cultura do milho. Funep.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J.; NOGUEIRA, L. M.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ANDREOTTI, M.; BELLOTE, J. L. M. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, p. e015036, 2016.

GERLING, Fernando Mateus. Características biométricas de plantas de soja coinoculadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal. In: III Biental Científica y Tecnológica Internacional - UNICAN 2024, 2024.

GLICK, B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research**, v.169, n.1, p.3039, 2014.

HENRIQUE, I. G., BOSQUEIRO, R. O., KOTSUBO, R. M., & BOTELHO, S. D. C. C. Déficit hídrico e a germinação de sementes de híbridos de milho. **Nativa**, v. 9, n. 3, p. 240-246, 2021.

JALES, H. F., MAGALHAES, P., RONCHI, C., DE PAIVA, A. P. L., DE CARVALHO, L. P., & GOMES JÚNIOR, C. C. Morfofisiologia do milho inoculado com *Azospirillum brasilense* submetido à restrição hídrica e adubação nitrogenada. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Milho e Sorgo**, 2021. 43 p.

KASIM, W. A., OSMAN, M. E., OMAR, M. N., ABD EL-DAIM, I. A., BEJAI, S., & MEIJER, J. Control of Drought Stress in Wheat Using PlantGrowthPromoting Bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, n.1, p.122130, 2013.

KAVAMURA, V.N. **Bactérias Associadas às Cactáceas da Caatinga: Promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico**, ESALQ, 2012. 246p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP.]

KMIECIK, A.; MENDONÇA, L. P. C. Avaliação da área foliar do milho (*Zea mays*) com o uso de enraizador e inoculação de *Azospirillum brasilense*. **Anais do 1º Simpósio de TCC, das faculdades FINOM e Tecsoma**. 2019; 1-7

MAGALHAES, P. C.; DUARTE, A. P.; GUIMARAES, PE de O. Tecnologias para desenvolvimento de milho em condições de safrinha. **SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA**, v. 9, p. 108-120, 2007.

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A. Efeito da posição da semente no substrato e no crescimento inicial das plântulas de palmito-vermelho (*Euterpe espirotosantensis* Fernandes–Palmae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 164-173, 1999.

MELO, I. S. de. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de (Eds.). **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2015. p. 87-116.

MORAIS, T. P. D. 82 f. **Adubação nitrogenada e inoculação com *Azospirillum brasilense* em híbridos de milho**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós- graduação em Agronomia, Uberlândia. 2012.

NECULQUEO, FJS; DA SILVA, F. A. M.; LUIZ, AJB. Métricas para estimar probabilidade de chuvas que causam risco à colheita do milho. In: **CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 15., 2021, Campinas. Anais... Campinas: Instituto de Zootecnia, 2021., 2021.

NETO, J. R. C.; BOSCAINI¹, R. Grãos ardidos em milho: uma revisão. **Revista Científica Rural**, v. 21, n. 2, p. 105-125, 2019.

OLIVEIRA SANTOS, W., SOBRINHO, J. E., DE MEDEIROS, J. F., DE MOURA, M. S. B., & DA COSTA NUNES, R. L. Coeficientes de cultivo e necessidades hídricas da cultura do milho verde nas condições do semiárido brasileiro. **Irriga**, Botucatu, BotucatuSP, v.19, n.4, p.559572, 2014.

OLIVEIRA, Alaerte Olbermann de; DA COSTA, Andreia Cristina Peres R.; ZUCARELI, Valdir. Inoculação com *Azospirillum brasilense*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium* em sementes de milho. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 13, n. 1, p. e12424, 2024.

PANIGRAHI, S., MOHANTY, S., & RATH, C. C. Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 isolated from *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. **South African Journal of Botany**, v.134, p.17 26, 2020.

PANOZZO, L. E.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T.; MIELEZRSKI, F.; PESKE, F. B. Comportamento de plantas de soja originadas de sementes de diferentes níveis de qualidade fisiológica. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 16, n. 1, p. 32-41, 2009.

REIS, C. D. O., de SOUZA, I. R. P., MAGALHAES, P., MARRIEL, I., & ANDRADE, C. Resposta do milho à inoculação com rizobactérias sob diferentes níveis de estresse hídrico. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Milho e Sorgo**, 2022.

REZENDE, R.; FREITAS, P. S. L.; MANTOVANI, E. C.; FRIZZONE, J. A. Função de produção da cultura do milho e do feijão para diferentes lâminas e uniformidade de aplicação de água. **Acta Scientiarum**, v.26, n.4, p.503-511, 2004.

RUFINO, C. A.; TAVARES, L. C.; VIEIRA, J. F.; DÖRR, C. S.; VILLELA, F. A.; BARROS, A. C. S. A. Desempenho de genótipos de milho submetidos ao déficit hídrico no estágio vegetativo. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 24, n. 3, p. 217-225, 2012.

SHAO, H.; CHU, L.; JALEEL, C. A.; ZHAO, C. Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 331, n. 3, p. 215-225, 2008.

SILVA, C. dos S.; DOS SANTOS, J. M. C.; DA SILVA, J. M.; TENÓRIO, F. A.; GUEDES-CELESTINO, E. L. F.; DE CRISTO, C. C. N.; NASCIMENTO, M. S.; MONTALDO, Y. C.; DE OLIVEIRA, J. U. L.; DOS SANTOS, T. M. C. Bioprospecting of endophytic bacteria (*Bacillus* spp.) from passionfruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*) for plant growth promotion. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 8, p. 1369–1374, 2019.

SILVA, D. F., DE MELO GARCIA, P. H., DE LIMA SANTOS, G. C., DE FARIAS, I. M. S. C., DE PÁDUA, G. V. G., PEREIRA, P. H. B., ... & CABRAL, A. M. D. Características morfológicas, melhoramento genético e densidade de plantio das culturas do sorgo e do milho: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e12310313172-e12310313172, 2021.

SILVA, J. H. B., DA SILVA, A. V., DA SILVA, C. M., GOMES, T. R. V. R., DOS SANTOS ARAÚJO, V. F., NÓBREGA, J. S., ... & DA SILVA LEAL, M. P. Uso de bioestimulantes na cultura do milho (*Zea mays* L.): Uma revisão. **Scientific Electronic Archives**, v. 16, n. 5, 2023.

SILVA, L. E. B., DE SALES SILVA, J. C., DE SOUZA, W. C. L., LIMA, L. L. C., & DOS SANTOS, R. L. V. Desenvolvimento da cultura do milho (*Zea mays* L.): revisão de literatura. **Diversitas Journal**, v. 5, n. 3, p. 1636-1657, 2020.

SIMÃO, E. P.; RESENDE, A. V.; GONTIJO NETO, M. M.; SILVA, A. F.; GODINHO, V. P. C.; GALVÃO, J. C. C.; BORGHI, E.; OLIVEIRA, A. C.; GIEHL, J. Nitrogen fertilization in off-season corn crop in different Brazilian Cerrado environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 55, e01551, 2020.

SOUZA, V. F. A cultura do milho-verde e sua importância socioeconômica. Cultivo do milho-verde irrigado na Baixada Maranhense, p. 15, 2020.

TURATTO, M. F., DOURADO, F. D. S., ZILLI, J. E., & BOTELHO, G. R. Potencial de controle de *Meloidogyne javanica* e *Ditylenchus* spp. usando *Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus* spp. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.49 n.1, p.5458, 2018.

XI, B.; YE, J. Screening and identification of high efficiency potassium-solubilizing bacteria and their growth-promoting effects on plants. **Journal of Henan Agricultural Science**, v. 2, p. 81–88, 2020.