

DANIELA FRANÇA DE OLIVEIRA PEDRAL

**Aplicação de *Bacillus megaterium* e disponibilidade de fósforo no desenvolvimento
inicial de plantas de milho**

São Cristóvão – SE

Abril-2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE – UFS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS APLICADAS – CCAA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AGRÔNOMICA – DEA

Aplicação de *Bacillus megaterium* e disponibilidade de fósforo no desenvolvimento inicial de plantas de milho

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia Agrônômica – Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

APROVADO em:

ORIENTADO: Daniela França de Oliveira Pedral

Prof. Dr. Airon José da Silva
(Orientador)

Prof. Dr. Paulo Roberto Gagliardi
(Banca examinadora)

Prof. Dr. Pedro Roberto Almeida Viégas
(Banca examinadora)

DEDICO

À Bruno.

(in memoriam)

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Solange e Alexandre, e à minha irmã Gabriela, por todo suporte e conforto proporcionado durante toda minha vida para que minha educação sempre fosse a prioridade.

Meus mais sinceros agradecimentos ao meu orientador, Prof. Dr. Airon José da Silva, pela confiança, paciência e acolhimento.

Ao Laboratório de Remediação do Solo da UFS e seus membros por toda colaboração necessária para a realização da pesquisa. Idamar, Kairon, Henrique, Juciele, Lucas, Thauane e Victor, este trabalho também é de vocês.

À BIOMULTI® Soluções em Agronegócios Ltda. pelo apoio e suporte necessário para a realização da pesquisa.

Às minhas amigas que estiveram ao meu lado desde o primeiro dia da graduação: Jeangela, Larissa, Louise, Milena e Sandy. O companheirismo de vocês deixou os últimos cinco anos mais leves. Por tudo, muito obrigada.

E ao meu gato José, por ser minha grande companhia durante as noites de escrita deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE TABELAS.....	VII
RESUMO.....	VIII
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1. Milho: características e importância econômica.....	10
2.2. Fósforo.....	11
2.3. <i>Bacillus megaterium</i>	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Análise de fósforo do solo.....	16
3.2. Análise de fósforo da parte vegetal.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5. CONCLUSÕES.....	25
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Vasos após o plantio da semente dispostos em casa de vegetação.....	14
Figura 2. Croqui da área experimental com disposição dos tratamentos distribuídos na bancada.....	14
Figura 3. Distribuição do experimento com o crescimento das plantas após 30 dias de experimento.....	15
Figura 4. Clorofilômetro digital clorofiLOG CFL1030 e paquímetro digital Western®.....	15
Figura 5. Pesagem do material vegetal para digestão nitro-perclórica.....	17
Figura 6. Deficiência de P em folha de milho.....	22

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Análise química do solo coletado (caracterização do solo).....	13
Tabela 2. Dados biométricos de crescimento inicial de plantas de milho inoculadas com <i>Bacillus megaterium</i>	18
Tabela 3. Pigmentos fotossintéticos de plantas de milho inoculadas com <i>Bacillus megaterium</i> em condições de casa de vegetação.....	19
Tabela 4. Produção de massa fresca e seca de plantas de milho inoculadas com <i>Bacillus megaterium</i> em condições de casa de vegetação.....	20
Tabela 5. Teor e conteúdo de fósforo no solo e em plantas de milho inoculadas com <i>Bacillus megaterium</i> em condições de casa de vegetação.....	21

RESUMO

O fósforo é um elemento essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Nos solos brasileiros, além de ser encontrado em baixos teores, muitas vezes está numa forma não disponível para a absorção vegetal, provocando a necessidade de adubação com grandes quantidades de adubos minerais. Tal prática, além de possuir alto investimento financeiro, não é aproveitada de maneira ideal pelas plantas, trazendo a busca por alternativas mais baratas e de menor impacto ambiental, como é o caso dos bioinsumos. O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da disponibilidade de fósforo no solo e o desenvolvimento inicial de plantas de milho inoculadas com *Bacillus megaterium* em condições de casa de vegetação. O experimento foi conduzido no *Campus* São Cristóvão da Universidade Federal de Sergipe, em blocos casualizados com sementes de milho inoculadas em concentrações de volume crescente do inóculo *B. megaterium*, ou seja: 0; 0,125; 0,250; 0,500; 0,750 e 1,000 mL por 60 mil sementes de milho, cinco repetições por dose, totalizando 30 unidades experimentais. Os parâmetros analisados foram: fósforo disponível no solo, altura das plantas, número de folhas, diâmetro do colmo, massa fresca e seca da parte aérea e das raízes, e massa total das plantas. Em todas as análises, os resultados não apresentaram diferenciação estatística entre os tratamentos, sendo necessário mais estudos para observar a eficácia das bactérias na solubilização do fósforo e sua absorção pelas plantas de milho.

Palavras-Chave: Fixação de fósforo no solo, fósforo disponível, inoculação de sementes de milho.

1. INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é de extrema importância econômica, social e cultural no cenário nacional. Segundo dados do CEPEA (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - Esalq/USP), entre 2001 e 2020 o milho gerou PIB de R\$715 bilhões, destes, R\$360 bilhões foram apenas devido ao aumento da produtividade. Seu grão é utilizado na alimentação animal e humana, também, é destinado para o processamento industrial, e, por possuir diversas aplicações, o milho é cultivado em todas as regiões do país, graças à diversidade de tecnologias que visam o aumento da produtividade que são aplicadas em todo o território nacional.

Parte desse progresso na produção se deve às mudanças tecnológicas relacionadas à melhoria na qualidade dos solos (Ribeiro, 2014), com o manejo adequado da fertilidade, calagem, gessagem, equilíbrio dos macronutrientes e micronutrientes, e diagnose correta da análise de solo (Coelho *et al.*, 2010). No que se refere à exigência nutricional, o fósforo é o elemento que possui a maior taxa de translocação para os grãos (77 a 86%), sendo de extrema importância para o sucesso da colheita.

De acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SiBCS) (Santos *et al.*, 2018), os solos brasileiros são predominantemente Latossolos e Argissolos, possuem baixa fertilidade natural e baixos teores de fósforo disponíveis. O fósforo é um elemento escasso nos solos brasileiros e apresenta pouca mobilidade, o que dificulta sua absorção pela planta e exige uma adubação fosfatada em grandes quantidades para suprir a necessidade nutricional das culturas.

No solo, o fósforo pode ser fornecido pela mineralização do fósforo orgânico ou da hidrólise do fósforo inorgânico. A mineralização do fósforo orgânico ocorre a partir da ação de fungos associados às raízes ou pela atuação de micro-organismos solubilizadores de fosfato, como bactérias do gênero *Bacillus*. Diversos estudos comprovam a eficácia das bactérias do gênero *Bacillus* em práticas agrícolas, como o crescimento vegetal e controle de doenças de maneira eficaz, econômica e sustentável (Shafi *et al.*, 2017).

Objetivou-se com esse trabalho avaliar a disponibilidade de fósforo no solo e o desenvolvimento inicial de plantas de milho inoculadas com *Bacillus megaterium* em condições de casa de vegetação.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Milho: características e importância econômica

O milho é uma planta pertencente à família Gramineae/Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Maydeae, gênero *Zea*, nome botânico *Zea mays* L. O milho, à semelhança de outras gramíneas, é também uma planta C4 porque a fixação e redução de CO₂, na fotossíntese, se dá com auxílio de ácidos orgânicos de quatro átomos de carbono, numa sequência de reações que precedem o ciclo de Calvin-Benson (EMBRAPA, 2006). Além disso, o bloqueio, compressão e multiplicação de características anatômicas das gramíneas provocam o aspecto monóico e traços morfológicos à planta (Magalhães *et al.*, 2002).

Segundo a Companhia Nacional de Desenvolvimento (CONAB, 2016), o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, estando apenas atrás da China (2º) e dos Estados Unidos (1º). Durante a primeira safra de 2022/2023, o país apresentou produção de 27.373,2 mil toneladas, numa área de 4.444,0 mil hectares. Na região Nordeste do país, o milho é cultivado para a colheita dos grãos e para ser destinado à alimentação animal, sendo utilizado principalmente como componente da silagem (Gomes *et al.*, 2019). A região SEALBA (Sergipe, Alagoas e Bahia) se destaca dentro da região Nordeste como local de grande potencial agrícola devido ao grande investimento econômico, aplicação de políticas públicas de incentivo à agricultura e alta diversidade de culturas cultivadas na região (EMBRAPA, 2019).

O sucesso da sua produção está diretamente ligado às práticas de manejo conservacionista e ao material genético utilizado, que deve ser adaptado às condições ambientais do local de plantio; à luminosidade, condições químicas e físicas do solo, pragas, doenças e plantas invasoras (EMBRAPA, 2017).

Na cultura do milho, fatores edafoclimáticos são de extrema importância para o desenvolvimento, permanência e sucesso da produção final. O manejo apropriado do solo está ligado às práticas de rotação de cultura, conhecimento do histórico de uso da propriedade, análises de solo físico-químicas periódicas e exigências nutricionais específicas de cada cultura (Coelho *et al.*, 2010; EMBRAPA 2022).

A interação com o meio, ou seja, a relação entre fatores bióticos e abióticos estão intimamente ligados, pois é necessário que haja, além de gás carbônico e oxigênio, luz solar, água e nutrientes, todos disponíveis na sua quantidade ideal de funcionamento, o que também se relaciona diretamente com as questões genéticas. Um exemplo seria a capacidade

fotossintética de uma determinada espécie e/ou variedade que pode ser de maior ou menor eficiência (Lima, 2018).

Para um bom desenvolvimento geral da planta, é necessário que o sistema radicular esteja bem desenvolvido. Um dos elementos limitantes de crescimento e de rendimento do milho é o fósforo, sendo que as plantas que não recebem a quantidade adequada de fósforo tendem a ser mais curtas, com raízes menos desenvolvidas e com menor produção de grãos. Além disso, a planta pode apresentar deficiência de energia e menor capacidade fotossintética (EMBRAPA, 2017; Lima, 2018).

2.2. Fósforo

O fósforo (P) é um elemento macronutriente de extrema importância para o crescimento vegetal por ser um componente integral de moléculas essenciais como o DNA, RNA e ATP (trifosfato de adenosina), que é a principal fonte de energia para as células; constituinte dos fosfolipídeos, formante da membrana vegetal; e compõe açúcar fosfato, agente da respiração e fotossíntese. Sua deficiência é observada através da atrofia do tecido vegetal do caule durante o crescimento, formação comprometida das folhas, com posterior morte das folhas mais velhas, e produção excessiva de antocianinas, que provocam a coloração arroxeada nas folhas deficientes do elemento (Taiz *et al.*, 2017).

No solo, sua mobilidade é baixa devido à sua agregação aos minerais de argila, tornando baixo o aproveitamento da cultura aos fertilizantes aplicados, com uma taxa de absorção entre 20 e 30%. Em relação a sua mobilidade na planta, o P é um elemento móvel devido à sua demanda para produção de novos tecidos e em áreas de crescimento (Pereira, 2009). O elemento é encontrado no solo em formas minerais e orgânicas, mas a maioria das plantas consegue absorver o fósforo apenas na forma de íons fosfato (PO_4^{3-}), e, sua ausência no ambiente pode limitar o crescimento das plantas e reduzir a produção agrícola (Bini & Lopez, 2016).

Um dos fatores que afeta a adsorção do fósforo disponível no solo pelas plantas é a presença de óxidos de ferro no sistema, pois os oxi-hidróxidos formam ligações químicas muito fortes com os íons fosfato. A depender da sua cristalinidade, os óxidos de área superficial específica reagem mais intensamente com os fosfatos, tornando-os impossibilitados de serem capturados pelas plantas (Hernández & Meurer, 1998).

Outro elemento que prejudica a interação da planta com os íons fosfato do solo é o alumínio, visto que restringe o crescimento e desenvolvimento radicular vegetal (Foy, 1976),

pois este se liga com o fósforo presente no solo na forma de íon fosfato para formar compostos de baixa solubilidade que se ligam na superfície e no interior das células vegetais (Abichequer *et al.*, 2003). Estudos realizados com cevada mostram que, em altas concentrações, a ligação do alumínio com os íons fosfato inativa a absorção do fósforo nas raízes, e, estando ligados dentro da planta, apresentam sintomas característicos de deficiência de fósforo a partir da toxicidade do alumínio no vegetal (Cruz *et al.*, 1967; Randall & Vose, 1963; Wright & Donahue, 1953).

Devido à sua importância, é comum adicionar fertilizantes fosfatados ao solo para aumentar a disponibilidade de fósforo para as plantas, principalmente em solos tropicais. Esses solos possuem alto intemperismo e a baixa concentração de P disponível está localizada apenas na camada superficial (0-20 centímetros), além de possuir baixa mobilidade no solo, tornando o elemento limitante de crescimento radicular das plantas (Bastos *et al.*, 2010; Bini & Lopez, 2016).

No entanto, o uso excessivo de fertilizantes fosfatados pode ter efeitos negativos no meio ambiente, como a contaminação de cursos d'água por escoamento de fertilizantes, o esgotamento de fontes finitas de rocha fosfática e alto custo econômico devido à adubação de baixa eficiência e alto custo econômico (Torres & Reyes, 2014).

O Brasil apresenta baixa característica de fertilidade do solo quando analisado os teores de fósforo em seus solos. Outro fator importante é a adsorção e competição pelo nutriente entre microrganismos na região da rizosfera da planta, fazendo com que as plantas consigam assimilar apenas 20% do fósforo aplicado no solo pela deslocção por difusão e precipitação do elemento (Santos *et al.*, 2021; Glick *et al.*, 2007; Quadros *et al.*, 2014).

Como alternativa para o uso de fertilizantes fosfatados, bioinsumos são indicados para a função. Bioinsumos são insumos biológicos de origem animal, vegetal ou microbiana, que interferem positivamente no desenvolvimento e produção agropecuária e nos sistemas de produção aquáticos ou florestais (FAO, 2020).

2.3. *Bacillus megaterium*

A produção sustentável é uma demanda crescente no meio agrícola, assim como a necessidade de segurança alimentar da população (Andrade & Bertoldi, 2012). Assim, meios de produção sustentáveis são cada vez mais estudados e utilizados (Santos Júnior, 2021). Dessa forma, os bioinsumos atuam como uma tecnologia inovadora que atende às demandas

da indústria, com a eficiência do produto, e à população, por ser um produto sustentável (Vidal, 2020).

Bacillus megaterium é uma espécie de bactéria Gram-positiva, aeróbica e em forma de bastonete, que é encontrada em uma ampla variedade de ambientes, incluindo solo, água, plantas e animais, conhecida por sua capacidade de formar esporos resistentes, o que a torna uma espécie muito robusta e resistente às condições ambientais adversas, tornando-a benéfica para os vegetais (Ongena *et al.*, 2008).

Uma das principais aplicações de *B. megaterium* na agricultura é como um agente promotor de crescimento de plantas. A bactéria é capaz de produzir hormônios vegetais, como a auxina, que promovem o crescimento das raízes e aumentam a absorção de nutrientes pelas plantas. Além disso, a bactéria pode também produzir enzimas que degradam materiais orgânicos, libera nutrientes no solo e os torna disponíveis para as plantas (Konemann *et al.*, 2001; Shafi *et al.*, 2017).

O uso de microrganismos com potencial de solubilização de fosfato é muito empregado em plantas sob escassez da molécula (Krishnaraj *et al.*, 2014). Sua solubilização ocorre com a produção e liberação de ácido orgânico, composto majoritário exsudado pelo sistema radicular das plantas após reconhecimento da situação nutricional do solo em que se encontra. Dessa forma, com a liberação dos ácidos, o fosfato é liberado das partículas do solo que não estão disponíveis para a planta e se torna disponível e possível de ser absorvido pelas plantas (Saeid *et al.*, 2018).

B. megaterium está sendo utilizada como solubilizador de fósforo no solo a fim de disponibilizá-lo para as plantas. Estudos mostram que a bactéria promove aumento no comprimento da planta, na quantidade de raízes e no peso (Barbosa & Pereira, 2022). Estudos comprovam que a bactéria também apresentou efeito positivo na melhoria da qualidade do solo e no desenvolvimento da planta quando aplicada em áreas de pastagem (Leal, 2021).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do trabalho, foram retirados, na faixa de profundidade de 0-20 cm, 60 kg de solo de uma área de cultivo de milho e planta forrageiras da Fazenda Experimental “*Campus Rural*” da Universidade Federal de Sergipe, localizado no município de São Cristóvão, Sergipe.

A caracterização química do solo foi realizada conforme a metodologia de Teixeira *et al.*, (2017) e os resultados estão na Tabela 1.

Tabela 1. Análise química do solo coletado (caracterização do solo).

pH	Ca+Mg	Ca	Mg	Al	H+Al	K	Na	CTC	SB	P	K	Na	V	PST
	cmol.dm ⁻³									mg.dm ⁻³			%	
5,39	1,83	1,33	0,50	0,03	1,75	0,35	0,14	4,07	2,32	15,39	137,10	33,00	57,11	3,53

Fonte: A autora.

O solo coletado foi transportado para o Laboratório de Remediação do Solo da Universidade Federal de Sergipe, onde foi peneirado com auxílio de uma peneira de 20 milímetros e, em seguida, seco em estufa a 40°C. Ao final da secagem, o solo foi dividido em 30 vasos com capacidade de 2,0 kg cada. Considerando os valores de caracterização do solo e a classificação para solos de textura média, o solo apresentou pH e V médios; cálcio, magnésio, alumínio, CTC e PST baixos; K e P altos (Sobral *et al.*, 2007)

Em cada vaso, foram semeadas cinco sementes de milho verde híbrido AG-1051 para posterior seleção de duas plantas, oito dias após a emergência das plântulas. Estas sementes foram embebidas com o isolado de bactérias *B. megaterium* obtidos através da empresa comercial BIOMULTI® Soluções em Agronegócios Ltda., em seis diferentes concentrações: 0; 0,125; 0,250; 0,500; 0,750 e 1,000 células por mL, em concentração de 2×10^{10} , por 60 mil sementes de milho (identificadas como T1, T2, T3, T4, T5 e T6, respectivamente) e cinco repetições por dose, totalizando 30 unidades experimentais, conduzidas em blocos casualizados (Figura 1).

A inoculação foi realizada a partir da adição de cada volume do inóculo aplicado diretamente sobre as sementes do milho em sacos plásticos, misturando bem as sementes com

a suspensão, e após 30 minutos, as sementes foram semeadas no vaso e os vasos levados para casa de vegetação.

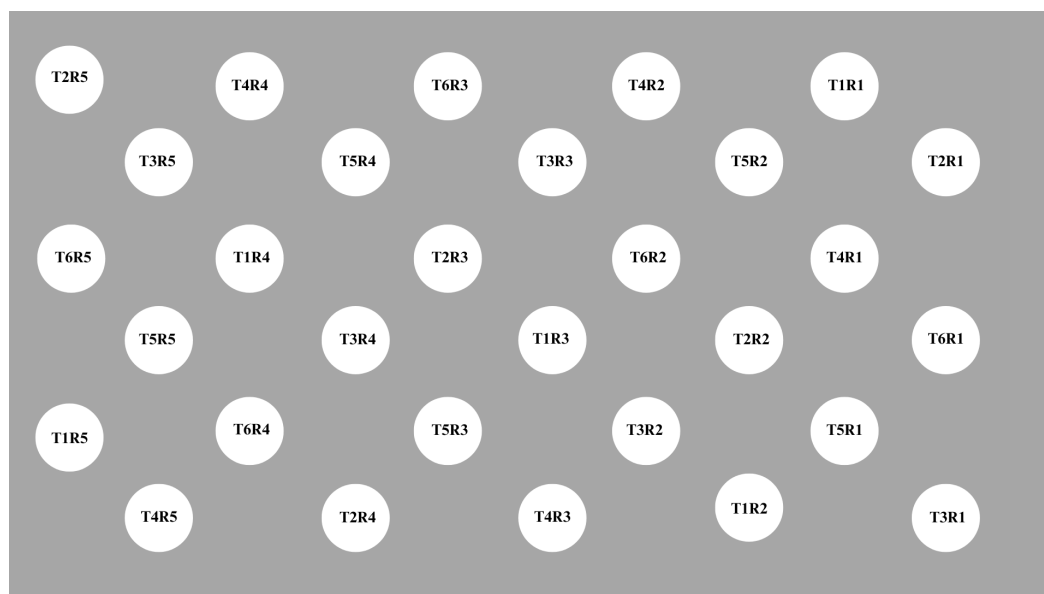
Figura 1. Vasos após o plantio da semente dispostos em casa de vegetação.



Fonte: A autora.

O experimento foi conduzido em estufa agrícola na Universidade Federal de Sergipe, com início em setembro de 2023 (Figura 2). A irrigação do foi realizada diariamente, de maneira que todos os vasos obtivessem peso igual e constante, e a adubação foi feita com uréia, cloreto de potássio e micronutrientes (Zn, Cu e Mn).

Figura 2. Croqui da área experimental com disposição dos tratamentos distribuídos na bancada.

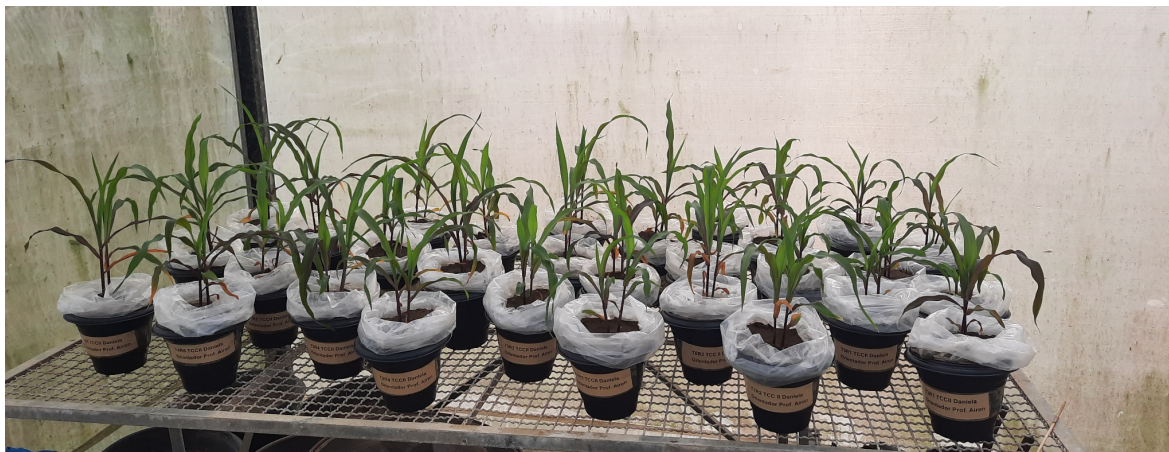


Fonte: A autora.

Ao final do período experimental de 30 dias (Figura 3), foram coletadas amostras de solo dos vasos para análise de fósforo disponível, além da tomada de medidas biométricas de crescimento das plantas, como altura, número de folhas e diâmetro do colmo, realizadas com o auxílio de clorofilômetro e paquímetro digital (Figuras 4 e 5). Após a colheita das plantas,

foram determinadas a massa fresca da parte aérea e das raízes, e, pela soma, a massa fresca total de cada planta.

Figura 3. Distribuição do experimento com o crescimento das plantas após 30 dias de experimento.



Fonte: A autora.

Figura 4. Clorofilômetro digital clorofiLOG CFL1030 e paquímetro digital Western®.



Fonte: A autora.

O material vegetal foi posto em estufa a 60°C até atingir peso constante, e, determinada, após secagem, as massas secas da parte aérea e das raízes, e, pela soma desses pesos, obteve-se a massa seca total. O material foi triturado em moinho de facas tipo Willey e armazenado em sacos plásticos com a identificação de acordo com a numeração do laboratório.

3.1. Análise de fósforo do solo

Para a realização da análise de fósforo disponível do solo, uma amostra de 10 cm³ de solo foi cachimbado em *erlenmeyer* de 125 mL, seguido de adição de 100 mL da solução extratora Mehlich-1 (HCl 0,05 mol.L⁻¹ e H₂SO₄ 0,0125 mol.L⁻¹) e agitação por 5 minutos em mesa agitadora horizontal. Ao final, foram deixadas em repouso por uma noite para decantação das partículas de solo em suspensão (Teixeira *et al.*, 2017).

Após 24 horas, 5 mL da solução (extrato) foram pipetados com auxílio de uma pipeta automática calibrada e adicionados em copos plásticos de 50 mL. Em seguida, 10 mL de solução de molibdato de amônio e aproximadamente 30 gramas de ácido ascórbico foram adicionados e agitados por cerca de 2 minutos e deixados em repouso por 1 hora. Por fim, foi realizada a leitura do teor de fósforo disponível das amostras em espectrofotômetro com comprimento de onda de 660 nm (Teixeira *et al.*, 2017).

3.2. Análise de fósforo da parte vegetal

Para a realização da análise de fósforo disponível na parte aérea e na raiz, ambas as partes vegetais foram submetidas ao método de digestão nitro-perclórica (Sarruge & Haag, 1974). Em balança analítica, foram pesados 0,50 g do material vegetal (Figura 5) e transferidos para tubos de ensaio, onde ocorreu a adição de 4,0 mL de ácido nítrico, permanecendo em repouso por aproximadamente 12 horas em uma capela de exaustão. Em seguida, o bloco digestor com os tubos foi posto sobre uma placa aquecedora, com aquecimento gradual até atingir a temperatura de 120°C, a qual permaneceu constante até o vapor de cor amarelada, originado pelo desprendimento do NO₂, ser interrompida. Ao cessar do vapor, 2,0 mL de ácido perclórico foram adicionados aos tubos e a temperatura foi lentamente elevada a 180°C, permanecendo constante até o vapor branco finalizar e a solução do extrato se tornar incolor (EMBRAPA, 2009).

Figura 5. Pesagem do material vegetal seco para digestão nitro-perclórica.



Fonte: A autora.

Após o extrato esfriar lentamente em temperatura ambiente, foi filtrado com auxílio de filtros de papel e transferidos para balão volumétrico de 25 mL completados com água destilada.

Para a leitura do fósforo disponível, 5,0 mL do extrato da solução nitro-perclórica foram pipetados e acrescidos de 20 mL de água destilada e 4 mL da solução de vanadato 2,5 g.L⁻¹ e molibdato 50,0 g.L⁻¹, deixadas em repouso por 5 minutos e, em seguida, sendo realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro com comprimento de onda a 420 nm (EMBRAPA, 2009).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística de variância utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos não foram significativos para as doses de *Bacillus megaterium* aplicado no tratamento das sementes de milho (Tabelas 2, 3, 4 e 5). É possível que as condições ambientais da casa de vegetação tenham influenciado negativamente o crescimento do *B. megaterium*, uma vez que o ambiente de cultivar estava com temperaturas muito elevadas durante toda a condução do experimento.

Tabela 2. Dados biométricos de crescimento inicial de plantas de milho inoculadas com *Bacillus megaterium*.

Tratamento	Nº de folhas	Altura	Diâmetro do colmo
	Unidade	-----mm-----	
T1	3,80	96,64	5,51
T2	4,00	93,69	5,01
T3	4,00	99,04	4,72
T4	3,60	91,95	5,11
T5	4,00	97,50	5,29
T6	3,80	105,50	5,01
CV (%)	17,98	15,29	9,79
P	0.9209	0.7684	0.2460

Fonte: A autora.

Fatores como a temperatura do ambiente, luminosidade e disponibilidade de água são considerados limitantes para o crescimento e desenvolvimento vegetal. Temperaturas acima de 30°C são prejudiciais para o desenvolvimento das folhas (Taiz *et al.*, 2017), e, como as temperaturas do local do experimento chegavam a mais de 35°C, é possível afirmar que o desenvolvimento das plantas foi comprometido, visto que houve a aferição constante da temperatura da estufa, que era superior a 40°C.

A comparação entre o número de folhas das plantas entre os tratamentos não apresentou diferenças significativas visto que a análise ocorreu quando todas as plantas estavam entre os estádios fisiológicos V3 e V5.

A média de altura da planta, embora ligeiramente maior no T6, não apresentou

diferença estatística ao ser comparada aos tratamentos de menor quantidade de *B. megaterium* aplicado. O tratamento controle mostrou-se mais eficiente do que os tratamentos T2 e T4, e o tratamento T3 apresentou altura média superior às do tratamento T5. A altura da planta, medida por Dalcin (2022) 25 dias após emergência das plântulas, obteve média de 21,0 centímetros, valor bem superior ao observado no presente estudo, indicando que as condições de cultivo na casa de vegetação interferiram negativamente no crescimento das plantas.

A avaliação do diâmetro do colmo não apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Foi observado que o tratamento controle apresentou o diâmetro maior que todos os outros, o T3 apresentou o menor diâmetro e os valores do T2 e T6 apresentaram valores iguais. A divergência nos resultados sugere que a aplicação do bioinsumo não foi um fator limitante para esta avaliação.

Tabela 3. Pigmentos fotossintéticos de plantas de milho inoculadas com *Bacillus megaterium* em condições de casa de vegetação.

Tratamento	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	Relação clorofila a/b
T1	28,47	6,15	4,61	34,62
T2	28,66	6,30	4,52	34,96
T3	23,65	6,08	3,88	29,73
T4	23,31	5,91	3,91	29,22
T5	29,69	6,41	4,60	36,10
T6	21,84	5,47	3,98	27,31
CV (%)	21,88	12,05	14,59	19,57
P	0.1659	0.4165	0.1829	0.1766

Fonte: A autora.

No estágio V3, as folhas e raízes estão no período de início do desenvolvimento. Nele há baixa absorção de nitrogênio pela planta, o que é refletido nos baixos teores de clorofila (Magalhães *et al.*, 2002). Os valores de clorofila coletados não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos nas análises de clorofila a, clorofila b, clorofila total e na relação de clorofila a/clorofila b.

A clorofila a (Chl *a*) é o pigmento verde mais predominante na folha e é considerada como maior responsável pela fotossíntese pois atua na produção de substâncias orgânicas, e a clorofila b (Chl *b*) é considerada como pigmento acessório pois atua auxilia na captação de luz pela planta a partir da ampliação da faixa de comprimento de ondas em nm. Sua produção na planta é feita a partir da síntese da Chl *a*, assim, quanto maior o índice de Chl *a*, também maior o teor de Chl *b* (Taiz *et al.*, 2017).

A relação Chl *a*/Chl *b* é encontrada na natureza, em maior parte, na proporção 3:1. Os valores analisados apresentaram proporções distantes das ideais em todos os tratamentos, sendo que para alcançar a proporção ideal, seria necessário o aumento médio de 42,75% nos teores de clorofila em todos os tratamentos.

Os tratamentos com aplicação de *B. megaterium* apresentaram queda na relação de clorofila quando comparados ao tratamento controle, com exceção do T5. O teor médio de clorofila entre todos os tratamentos foi de 31,99, valor considerado ao serem comparados ao estudo de Argenta *et al.* (2001), onde foram obtidos valores médios de clorofila, no estágio V3, de 45,4.

Tabela 4. Produção de massa fresca e seca de plantas de milho inoculadas com *Bacillus megaterium* em condições de casa de vegetação.

Tratamento	MFPA	MSPA	MFR	MSR	MFT	MST
	-----g. vaso ⁻¹ -----					
T1	9,27	1,19	16,62	1,35	25,88	2,54
T2	8,76	1,11	14,42	1,17	23,18	2,28
T3	9,02	1,17	15,56	1,27	24,58	2,44
T4	7,60	0,99	13,14	0,87	20,74	1,85
T5	10,13	1,26	16,69	1,11	26,81	2,37
T6	9,86	1,34	17,17	1,28	27,03	2,62
CV (%)	17,56	17,18	17,87	28,02	16,14	20,53
P	0.2120	0.1459	0.2168	0.2781	0.1503	0.2092

Fonte: A autora.

O maior teor de massa fresca da parte aérea (MFPA) e da massa seca da parte aérea (MSPA) foi encontrado no tratamento T5, todavia, os tratamentos T2, T3 e T4 apresentaram efeito oposto ao esperado, com valores inferiores ao tratamento sem a aplicação de *B. megaterium*. A partir do tratamento T6, foi observado o início do aumento dos teores de

MSPA.

O mesmo fenômeno da análise de MFPA repetiu-se na análise da massa fresca da raiz (MFR), com apenas o tratamento T6 possuindo valor ligeiramente mais elevado que o tratamento sem a presença de *B. megaterium*. Entretanto, todos os valores dos tratamentos T2 a T6 da massa seca da raiz (MSR) foram menores que o T1.

No somatório da massa fresca total (MFT) e da massa seca total (MST), apenas as doses dos tratamentos T5 e T6 mostraram-se promissoras para o aumento da massa vegetal.

Nessa avaliação, de forma geral, os tratamentos T2, T3 e T4 mostraram-se ineficientes, sendo apenas T5 e T6 com potencial de melhoria dos aspectos analisados.

Em estudos realizados com inoculação de bactérias *Azospirillum brasilense* em sementes de milho por Milléo e Cristófoli (2016), o ganho de massa, tanto na parte aérea quanto na raiz mostraram-se promissores, com os ganhos aumentando à medida em que houve a elevação da dose do inoculante aplicado.

Tabela 5. Teor e conteúdo de fósforo no solo e em plantas de milho inoculadas com *Bacillus megaterium* em condições de casa de vegetação.

Tratamento	P disponível	P Parte aérea	P raízes	CP Parte aérea	CP raízes
	mg.dm ⁻³	-----mg.kg ⁻¹ -----		-----mg.vaso ⁻¹ -----	
T1	16,86	142,35	223,57	0,16	0,27
T2	18,29	111,91	254,02	0,13	0,28
T3	23,00	111,91	233,72	0,13	0,28
T4	18,14	137,28	233,72	0,14	0,19
T5	17,86	132,21	243,87	0,17	0,26
T6	20,29	122,06	264,17	0,16	0,32
CV (%)	23,70	20,72	22,59	27,57	23,22
P	0.3395	0.3297	0.8613	0.4975	0.0787

Fonte: A autora.

O fósforo disponível no solo, em comparação com o tratamento sem a presença de *B. megaterium*, apresentou maior concentração no tratamento T3, entretanto, seu aumento

de 20,34% não foi suficiente para haver diferenciação estatística entre os tratamentos. O tratamento T5 apresentou concentração menor que o T1, efeito inesperado visto que os tratamentos com doses do inoculante superior e inferior ao T5 apresentaram ganhos ao serem comparados com o T1.

O P absorvido pelas raízes apresentou valores iguais nas doses aplicadas no T3 e T4. O tratamento de maior destaque foi o T6, de maior dosagem; e o T2 apresentou a segunda melhor resposta à aplicação do inoculante.

O teor de fósforo da parte aérea foi mais elevado no T1, mostrando que a solubilização e absorção do fósforo disponibilizado não foi eficiente para o aproveitamento na parte aérea do vegetal. A deficiência do fósforo na planta pode ser observada na Figura 5, caracterizada pela coloração arroxeada das folhas. O conteúdo de fósforo das raízes e da parte aérea não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

Estudos com a aplicação do isolado de cepas B119 de *B. megaterium* mostram o sucesso da fixação do fósforo no solo, porém apenas quando aplicado junto à adubação fosfatada de superfosfato triplo (Paiva, 2020). Efeitos da bactéria apenas sob o fósforo já presente no solo não foram encontrados, o que corrobora os resultados obtidos neste estudo.

Figura 6. Deficiência de P em folha de milho.



Fonte. A autora.

Os resultados obtidos sugerem a necessidade de realização de novos estudos, em ambientes e doses de inoculante diferentes para mensuração dos teores de *B. megaterium* ideais para as variedades e condições climáticas adaptadas a diferentes regiões. Em

hipótese, as bactérias podem apresentar comportamentos adversos em solos com teores de fósforo e matéria orgânica altos, como sugerido por Dalcin (2022).

5. CONCLUSÕES

A aplicação de *Bacillus megaterium* como agente solubilizador de fósforo no solo não apresentou efeitos significativos nas análises biométricas das plantas, sendo necessário mais estudos para avaliar sua eficiência desvinculada da adubação fosfatada.

A inoculação de *B. megaterium* nas sementes de milho não proporcionou maior disponibilidade de fósforo no solo nas condições de estudo.

6. REFERÊNCIAS

A cultura do milho / editores técnicos, José Carlos Cruz...[et al]. - Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2008. 517 p. ; 15,5x22,5 cm

ABICHEQUER, A. D.; BOHNEN, H.; ANGHINONI, I.. Absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo submetidas à toxidez de alumínio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 373-378, abr. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-06832003000200017>.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

BASTOS, A. L.; COSTA, J. P. V.; SILVA, I. F.; RAPOSO, R.W.C.; OLIVEIRA, F.A.; ALBUQUERQUE, A.W. Resposta do milho a doses de fósforo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 5, p. 485–491, 2010.

BARBOSA, Jean Samuel de Oliveira; PEREIRA, Paulo Sergio Silva. **APLICAÇÃO DE SOLUBILIZADOR DE FÓSFORO EM DIFERENTES DOSAGENS NA CULTURA DA CENOURA**. 2022. 17 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Centro de Ensino Superior de São Gotardo, São Gotardo, 2022.

BINI,D.; LOPEZ, M.V. Transformações microbianas do fósforo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; ANDREOTE, F.D. **Microbiologia do Solo**. São Paulo: ESALQ, 2016, p. 47-60.

COELHO, A.M.; FRANÇA, G. E. de; PITTA, G.V.E.; ALVES, V.M.C.; HERNANI, L.C. **Nutrição e adubação do milho**. Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção, 1. Versão Eletrônica – 6º edição. Set./2010

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, DF, v. 11, safra 2023/24, n. 6, sexto levantamento, março 2024.

CRUZ, A.D.; HAAG, H.P.; SARRUGE, J.R.; MALAVOLTA, E.. Interação entre alumínio e fósforo, em duas variedades de trigo (*Triticum Vulgare* L.) cultivado em solução nutritiva.

Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, [S.L.], v. 24, p. 119-129, 1967. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0071-12761967000100012>.

DALCIN, Gabriel. Uso de *Bacillus megaterium* e *B. subtilis* e adubação fosfatada na produtividade do milho. / Gabriel Dalcin, 2022. 41 f.

Disponibilidade de cultivares de milho para o mercado de sementes do Brasil: safra 2021/2022 /Israel Alexandre Pereira Filho, Emerson Borghi-Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2022.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2. Ed. Brasília – DF, **EMBRAPA**, 2009, 627p.

FANCELLI, Antônio Luiz. **Plantas alimentícias ; guia para aula , estudos e discussão. .** Piracicaba: Calq. . Acesso em: 6 abr. 2023. , 1986.

FOY, C.D. Differential aluminum and manganese tolerances of plant species and varieties in acid soils. **Ci. Cult.**, 28:150- 155, 1976.

GOMES, Fátima de Souza et al. Características de crescimento e desenvolvimento do milho crioulo com diferentes adubações orgânicas. **Caderno de Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 11, p. 1-8, 8 dez. 2019. Universidade Federal de Minas Gerais - Pró-Reitoria de Pesquisa. <http://dx.doi.org/10.35699/2447-6218.2019.15949>.

HERNÁNDEZ, J.; MEURER, E. J.. Adsorção de fósforo e sua relação com formas de ferro em dez solos do Uruguai. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 223-230, jun. 1998. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-06831998000200007>.

IBARRA-GALEANA, J.A., Castro-Martínez, C., Fierro-Coronado, R.A. *et al.* Caracterização de bactérias solubilizantes de fosfato que apresentam potencial de promoção do crescimento e melhoria da nutrição do fósforo em milho (*Zea mays* L.) em solos calcários de Sinaloa, México. **Ann Microbiol** 67, 801–811 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1308-9>

KRISHNARAJ, P U; DAHALE, S. Mineral Phosphate Solubilization: concepts and prospects in sustainable agriculture. **Proceedings Of The Indian National Science Academy**, [S.L.], v. 80, n. 2, p. 389, 1 jun. 2014. Indian National Science Academy. <http://dx.doi.org/10.16943/ptinsa/2014/v80i2/55116>

LEAL, M. L. A.; CHAVES, J. S.; SILVA, J. A.; SILVA, L.S.; SOARES, R.B.; NASCIMENTO, J.P.S.; MATOS, S.M.; TEXEIRA JUNIOR, D.L.; BRITO NETO, A.F. Efeito dos sistemas de manejo e do uso do solo na população de microrganismos do solo. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. e21910917966, 2021.

MAGALHÃES, Paulo César; DURAES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do Milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/486995>. Acesso em: 14 dez. 2023.

MILLÉO, M. V. R.; CRISTÓFOLI, Isadora. Avaliação da Eficiência Agronômica da Inoculação de *Azospirillum sp.* na Cultura do Milho. **Revista Scientia Agraria**. SA vol. 17 n°. 3 Curitiba jul/dez. 2016 p. 14-23.

ONGENA, M.; JACQUES, P. Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 115–125, 2008.

PAIVA, Christiane, *et al.* Recomendação agronômica de cepas de *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) na cultura do milho. **Embrapa Milho e Sorgo**; Sete Lagoas, MG; fevereiro 2020. 19 p.

PATÍÑO-TORRES, C. O.; SANCLEMENTE-REYES, O. E. Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. **Entramado**, v. 10, n. 2, p. 288-297, 2014.

PEREIRA, Hamilton Seron. Fósforo e potássio exigem manejos diferenciados. **Visão Agrícola**, [S.L.], v. 9, n. 10, p. 43-46, jul. 2009.

RANDALL, P. J.; VOSE, P. B.. Effect of Aluminum on Uptake & Translocation of Phosphorus by Perennial Ryegrass. **Plant Physiology**, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 403-409, 1 jul. 1963. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1104/pp.38.4.403>.

RIBEIRO, Sérgio. (2014). Cultura do Milho no Brasil. **Revista Científica Semana Acadêmica**. 1. 1.

SAEID, Agnieszka; PROCHOWNIK, Ewelina; DOBROWOLSKA-IWANEK, Justyna. Phosphorus Solubilization by Bacillus Species. **Molecules**, [S.L.], v. 23, n. 11, p. 2897, 6 nov. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules23112897>.

SANTOS, HG *et al.* Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 5ª.ed., **rev.ampl.** Brasília-DF: Embrapa, 2018. 590 p.

Sealba: região de alto potencial agrícola no Nordeste brasileiro / Sergio de Oliveira Procópio ... [et al.]. – Aracaju : Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2019. 62 p. (Documentos / Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1678-1953; 000).

SHAFI, J.; TIAN, H.; JI, M.. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 31, n. 3, p. 446–459, 2017.

SOBRAL, LF *et al.* Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes no Estado de Sergipe. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2007. 251p.

TAIZ, Lincoln *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed.[S.L.]:Artmed, 2017.858 p.

TEIXEIRA, Paulo César *et al.* **Manual de Métodos de Análise de Solo**. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa Solos, 2017. 577 p.

VIDAL, M.C.; SALDANHA, R.; VERÍSSIMO, M.A.A. Bioinsumos: O programa nacional e sua relação com a produção sustentável. **Livro: Sanidade Vegetal: Uma estratégia global para eliminar a fome, reduzir a pobreza, proteger o meio ambiente e estimular o desenvolvimento econômico sustentável** – Cap. 4, p. 382-410, 2020. Disponível em: <https://issuu.com/cidasc>.

WRIGHT, Kenneth E.; DONAHUE, Barbara A.. Aluminum Toxicity Studies with Radioactive Phosphorus. **Plant Physiology**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 674-680, 1 out. 1953. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1104/pp.28.4.674>.