Recital
Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara/MG.

FORMAS DE APLICAÇÃO DE *BACILLUS METHYLOTROPHICUS* E *BACILLUS SUBTILIS* NO CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE MILHO

Ways to apply Bacillus methylotrophicus and Bacillus subtilis in corn growth and production

Antonia Mirian Nogueira de Moura GUERRA
Universidade Federal do Oeste da Bahia
mirianagronoma@hotmail.com

Tiago Mascarenhas GOMES
Universidade Federal do Oeste da Bahia
tiago.g0575@ufob.edu.br

Manoela dos Santos DIAS
Universidade Federal do Oeste da Bahia
manoela.d0575@ufob.edu.br

Aracy Soares dos SANTOS
Universidade Federal do Oeste da Bahia
aracy.s0403@ufob.edu.br

DOI: https://doi.org/10.46636/recital.v6i1.420

Resumo

Um dos principais entraves para uma maior produtividade da cultura do milho é sua alta exigência nutricional. As bactérias do gênero *Bacillus*, dentre elas o *Bacillus subtilis* e *Bacillus methylotrophicus*, tem mostrado a interação benéfica agindo em diversos mecanismos na planta produzindo fitormônios do crescimento, além de aumentar o aproveitamento de nutrientes do solo através da solubilização dos fosfatos minerais no solo. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a forma de aplicação de *B. subtilis* e *B. methylotrophicus* como promotores do crescimento e produção de milho. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com sete tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram: 1 - Controle sem inoculação; 2 - Inoculação com *B. methylotrophicus* via sementes; 3 - Inoculação com *B. methylotrophicus* via sementes + aplicação via solo aos 30 DAE; 4 - Inoculação com *B. methylotrophicus* via solo aos 15 e 30 DAE. 5 - Inoculação com *B. subtilis* via sementes; 6 - Inoculação com *B. subtilis* via sementes + aplicação via solo aos 30 DAE; 7 - Inoculação com *B. subtilis* via solo aos 15 e 30 DAE. Todas as diferentes formas de manejo da aplicação de bactérias promotoras do crescimento foram superiores à testemunha. Quanto a massa seca da raiz aos 45, 60 e 90 dias, o uso das bactérias contribuíram para um melhor resultado em relação ao controle, com destaque para a inoculação de *B. subtilis* via semente. O *B. subtilis* via semente + uma aplicação via solo aos 30 DAE e o *B. methylotrophicus* em duas aplicações via solo aos 15 e 30 DAE, proporcionaram maior produtividade de grãos de milho.

Palavras-chave: Inoculação. Microrganismos promotores de crescimento. Produção de grãos. Rizobactérias.

Abstract

One of the main obstacles to greater corn productivity is its high nutritional requirements. Bacteria of the genus *Bacillus*, including *Bacillus subtilis* and *Bacillus methylotrophicus*, have shown beneficial interactions acting on several mechanisms in the plant, producing growth phytohormones, in addition to increasing the use of soil nutrients through the solubilization of mineral phosphates in the soil. In this context, the objective of the work was to evaluate the application of *B. subtilis* and *B. methylotrophicus* as promoters of corn growth and production. A randomized block experimental design was used with seven treatments and four replications. The treatments were: 1 - Control without inoculation; 2 - Inoculation with *B. methylotrophicus* via seeds; 3 - Inoculation with *B. methylotrophicus* via seeds + application via soil at 30 DAE; 4 - Inoculation with *B. methylotrophicus* via soil at 15 and 30 DAE. 5 - Inoculation with *B. subtilis* via seeds; 6 - Inoculation with *B. subtilis* via seeds + application via soil at 30 DAE; 7- Inoculation with *B. subtilis* via soil at 15 and 30 DAE. All different ways of managing the application of growth-promoting bacteria were superior to the control. Regarding the dry mass of the root at 45, 60 and 90 days, the use of bacteria contributed to a better result in relation to the control, with emphasis on the inoculation of *B. subtilis* via seed. *B. subtilis* via seed + one application via soil at 30 DAE and *B. methylotrophicus* in two applications via soil at 15 and 30 DAE, provided greater productivity of corn grains.

Keywords: Inoculation. Growth-promoting microorganisms. Grain production. Rhizobacteria.

INTRODUÇÃO

Da família Poaceae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays*, é uma cultura anual de porte ereto, alógama, ciclo de vida entre 120 a 140 dias, mecanismo C4 e possui raiz fasciculada. É originária da América Central, mais especificamente do México, sendo explorada desde o início das práticas agrícolas, tendo início de sua domesticação há mais de 10.000 anos, servindo de base da alimentação de várias civilizações, como os astecas, incas e maias (BORÉM *et al.,* 2017). O milho apresenta-se como o cereal mais produzido no mundo, sendo notável seus inúmeros usos, que vão desde o consumo humano e animal até a utilização como fonte de matéria prima na fabricação de subprodutos em indústrias de alta tecnologia (CONTINI *et al.,* 2019).

Atualmente, o Brasil encontra-se como o terceiro maior produtor de milho do mundo, atrás apenas dos EUA e China. Para a safra 2022/23 a expectativa é de produção de pouco mais que 123 milhões de toneladas, e uma produtividade de 5.617 kg ha^{-1} (CONAB, 2023).

Um dos principais entraves para uma melhor produtividade da cultura do milho é a sua alta exigência nutricional, sendo assim, faz-se necessária a aplicação de altas quantidades de fertilizantes, principalmente Nitrogênio (N) e Potássio (K), seguidos de Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Fósforo (P), além de boas práticas de manejo. Um ponto importante a ser salientado é que, quando há uma baixa quantidade de P no solo, limita-se a absorção de N pela planta, então é importante um bom equilíbrio entre estes nutrientes no perfil do solo (BORÉM *et al.,* 2017). Além disso, o milho possui uma baixa eficiência de aproveitamento de N, absorvendo entre 50 a 60% do total do nutriente aplicado ao solo (VALDERRAMA *et al.,* 2014).

Neste âmbito, faz-se necessário a maximização do uso desses fertilizantes visando uma maior taxa de absorção de nutrientes pelas plantas. Para isso vem se intensificado o uso de rizobactérias promotoras de crescimento, que aplicadas no solo, podem aumentar a taxa de absorção de nutrientes, influenciar diversos mecanismos da planta, como a produção de reguladores de crescimento (auxinas, citocininas e giberelinas), realizar a solubilização de fosfatos minerais, além de promover o controle biológico de patógenos na rizosfera, com isso há efeitos positivos a partir do momento da germinação até a produção de grãos (LIMA *et al.,* 2011).

O gênero *Bacillus* é um grupo de bactérias Gram-positivas que possui cerca de 360 espécies caracterizadas por sua adaptabilidade na rizosfera das plantas, colonizando-as e aumentando diretamente na produtividade das culturas. Além disso, elas possuem uma grande capacidade de biocontrole de fitonematoides, e por esses motivos que vem sendo bastante usadas e estudadas (PAIVA, 2020).

Dentre as espécies de bactérias constituintes do gênero *Bacillus*, a *B. subtilis* e a *B. methylotrophicus*, são representantes de amplo uso no setor agrícola, elas possuem metabolismo aeróbico, de mobilidade livre, apresentando-se em formatos semelhantes a bastonetes, tendendo a forma cilíndrica e/ou elipsoidal, vivem no solo em geral, com preferências na região da rizosfera, onde, proporcionam uma relação de mutualismo com o organismo vegetal (MONNERAT *et al.,* 2020). Segundo Buchelt *et al.* (2019), o *B. subtillis* está atribuído a alguns processos, tais como, síntese de fitormônios que proporcionam o crescimento do sistema radicular, assim como o aumento de pelos radiculares e, consequentemente, possibilitam uma

maior absorção de água e nutrientes. Do mesmo modo, o *B. methylotrophicus* possui uma interação benéfica com a planta, sendo encontrada na região da rizosfera promovendo a solubilização de fósforo e outros nutrientes, além da fixação do nitrogênio (OLIVEIRA, 2018).

Zucareli *et al.* (2018), ao analisar o efeito da associação de adubos fosfatados com a inoculação de *B. subtilis* sobre o desenvolvimento e produção de feijão, constataram que as plantas que foram inoculadas e receberam como fonte de P o superfosfato triplo, apresentaram melhor desenvolvimento vegetativo. Do mesmo modo, Mazzuchelli *et al.* (2014) observaram aumento da massa fresca da parte aérea, peso da espiga e produtividade na cultura do milho com o uso de *B. subtilis*, tanto na inoculação da semente como no sulco de plantio. Enquanto Stolte *et al.* (2020), em experimento *in vitro*, relataram incremento de cerca de 21,33% de massa e 15% de comprimento da raiz de plântulas de arroz quando tratadas com *B. methylotrophicus*.

Neste contexto, objetivou-se avaliar a forma de aplicação de *B. subtilis* e *B. methylotrophicus* como bioestimulantes do crescimento e produção de milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação localizado na área experimental da Universidade Federal do Oeste da Bahia, Centro Multidisciplinar de Barra (11° 5′ 23″ S, 43° 8′ 30″ W), altitude de 398 m, situado no município de Barra - BA. O clima é do tipo Aw, segundo a classificação climática de Köppen, caracterizado por inverno seco e período de verão chuvoso, tendo como média pluviométrica anual cerca de 500 mm e temperatura média anual de 25,5 ºC. Durante o período do experimento que foi de 01/09/2022 a 15/12/2022, as temperaturas e umidade relativa do ambiente de cultivo forma monitoradas com um termo-higrômetro digital portátil (HT-200 Digital, Instrutherm, São Paulo, SP, Brasil), com precisão de ±0,1ºC, conforme a Figura 1.

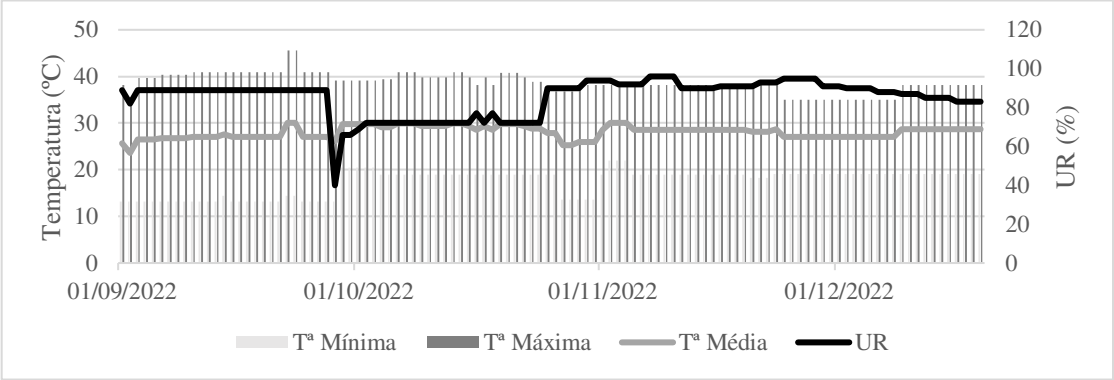


Figura 1 - Temperaturas mínima, máxima e média, e umidade relativa do ar registradas na casa de vegetação tipo telado 50% onde foram cultivadas as plantas de milho, no período de 01/09/2022 a 15/12/2022, em Barra – BA. Fonte: Autoria própria.

Foi utilizada a cultivar de milho DKB 255 PRO3 e os tratamentos foram a forma de aplicação dos bioestimulantes a base de bactérias promotoras do crescimento, os produtos Onix® (*Bacillus methylotrophicus* 1 x 10^9 UFC/g) e Rizos® (*Bacillus subtilis* 3 x 10^9 UFC/mL). Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com 7 tratamentos e 4 repetições. Na tabela 1 segue a descrição dos tratamentos.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos com aplicação dos bioestimulantes a base de bactérias promotoras do crescimento em plantas de milho, em Barra – BA.

Tratamento	Produto	Dose	Forma de aplicação
1	Controle, sem inoculação	-	-
2	*Bacillus methylotrophicus* via semente	3 mL kg^{-1} de semente*	Inoculação na semente antes da semeadura
3	*Bacillus methylotrophicus* via semente + uma aplicação via solo	3 mL kg^{-1} de semente + 1,5 mL L^{-1}*	Inoculação na semente + uma aplicação via solo aos 30 DAE**
4	*Bacillus methylotrophicus* em duas aplicações via solo	1,5 mL L^{-1}*	Via solo com duas aplicações, sendo aos 15 e 30 DAE
5	*Bacillus subtilis* via semente	3 mL kg^{-1} de semente*	Inoculação na semente antes da semeadura
6	*Bacillus subtilis* via semente + uma aplicação via solo	3 mL kg^{-1} de semente + 0,5 mL L^{-1}*	Inoculação na semente + uma aplicação via solo aos 30 DAE
7	*Bacillus subtilis* em duas aplicações via solo	0,5 mL L^{-1}*	Via solo com duas aplicações, sendo aos 15 e 30 DAE

*As doses seguem a recomendação do fabricante dos produtos. ** DAE: dias após emergência
Fonte: Autoria própria.

A aplicação dos produtos via sementes foi realizada com a inoculação e em seguida feita a semeadura nos vasos. Para a aplicação via solo, o volume de solução de 50 mL foi aplicado na superfície de solo ao redor da planta.

O solo utilizado para o preparo do substrato é classificado como Neossolo Quartzarênico, que foi peneirado em peneira de malha 2 mm visando a separação de resíduos e agregados maiores e grosseiros. A análise do solo (0 - 20 cm) utilizado apresentou as características: pH em H_2O = 4,8; P = 21,1 mg dm^{-3} (Mehlich 1); K = 44 mg dm^{-3}; Ca^{2+} = 1,0 $cmol_c$ dm^{-3}; Mg^{2+} = 0,3 $cmol_c$ dm^{-3}; S = 7,00 mg dm^{-3}, Cu = 0,3 mg dm^{-3}, B = 0,26 mg dm^{-3}, Fe = 123 mg dm^{-3}, Mn = 6,7 mg dm^{-3}, Zn = 0,8 mg dm^3, Na = 1,8 mg dm^{-3}, H+Al = 2,6 $cmol_c$ dm^{-3}, V = 35,1% e M.O = 8,9 g dm^{-3}. Granulometria (%): Areia = 86,5, Silte = 2,5 e Argila = 11 (LABORATÓRIO EXXATO, 2022).

A adubação de plantio foi 100 mg dm^{-3} de N; 100 mg dm^{-3} de P_2O_5; 150 mg dm^{-3} de K; 40 mg dm^{-3} de S; 0,81 mg dm^{-3} de B; 1,33 mg dm^{-3} de Cu; 1,55 mg dm^{-3} de Fe; 3,66 mg dm^{-3} de Mn; 0,15 mg dm^{-3} de Mo; e 4,00 mg dm^{-3} de Zn. Foram utilizados vasos de 10 L de volume completamente preenchidos com o substrato. Foram utilizados 120 kg ha^{-1} de N (2,88 g $planta^{-1}$) e 100 kg ha^{-1} de K_2O (2,40 g $planta^{-1}$), parcelados em duas vezes (aos 45 e 70 DAE). Semeou-se três sementes de milho em cada vaso e sete dias após a emergência fez-se o desbaste, permanecendo apenas uma planta por vaso.

A determinação da quantidade de água que foi usada na irrigação de cada vaso foi feita por meio do método da pesagem, obtendo assim a quantidade de água necessária para manter o substrato a 80% de sua capacidade de saturação (EMBRAPA, 2017). Diariamente foi feita a pesagem dos vasos para determinar a quantidade de água usada para a irrigação.

Foram realizadas três aplicações de fungicida Nativo® (Trifloxistrobina 100 g L^{-1} e tebuconazol 200 g L^{-1}) para controle das doenças foliares Cercosporiose (*Cercospora zeae-maydis*), Ferrugem comum (*Puccinia sorghi*) e Helmintosporiose (*Exserohilum turcicum*), e as aplicações foram realizadas ao surgimento dos sintomas. Para o controle de insetos pulgão do milho (*Rhopalosiphum maidis*) e Lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) foram efetuadas três aplicações com Evidence® 700 WG (Imidacloprido 700 g L^{-1}) + Capataz® (Clorpirifós 480 g L^{-1}).

Aos 45, 60 e 90 DAE foram realizadas análises destrutivas das plantas para avaliar o comprimento e volume do sistema radicular, a área foliar e a partição de massa de matéria seca. As plantas foram coletadas e divididas em parte aérea (folhas e colmos) e raízes. Apenas aos 90 DAE foram tomada a altura das plantas, o diâmetro do colmo e a área foliar. Após a determinação da área foliar das plantas por meio de um medidor de área foliar de mesa, as partes das plantas foram acondicionadas em sacos de papel e colocados em estufa com circulação forçada de ar a 70 ºC, por 72 horas, com posterior determinação da matéria seca. O sistema radicular foi lavado em peneiras de 3 mm para a completa retirada do substrato. Em seguida, utilizando-se de uma régua, foi tomada a distância entre a inserção com o caule e a ponta da maior raiz (HUNT, 1990). O volume do sistema radicular foi obtido pelo método do deslocamento de água em proveta. Em uma proveta de 2 L preenchida com água destilada até a marca de 1L, foram inseridas as raízes e quantificado o volume de deslocamento da água (mL) (ZENZEN *et al.,* 2007).

A maturidade fisiológica foi alcançada aos 90 DAE e aos 110 DAE quando as plantas estavam completamente secas, foi feita a coleta das espigas e a contagem do número de espigas por planta, comprimento e diâmetro de espigas, número de fileiras por espigas e de grãos por espiga, além da quantificação da massa de grãos por espiga e o peso de mil grãos. As espigas foram despalhadas e com um paquímetro tomada a medida de um extremo ao outro para obtenção do comprimento da espiga. Para o diâmetro de espiga, essa medida foi tomada com o paquímetro na região mediana da espiga. Após, foi feita a contabilidade do número de fileiras e grãos da espiga. A espiga foi debulhada manualmente e com os grãos obtidos, feita a pesagem e obtido o peso de grãos de uma espiga. Para quantificar a massa de mil grãos (em gramas), após a colheita foram retiradas duas amostras simples de cada parcela, cada uma contendo 1.000 grãos. As amostras foram pesadas de maneira independente, levadas ao medidor de umidade, e foram medidas por três vezes consecutivas, e, após este procedimento foi realizado a média aritmética de cada uma das parcelas, obtendo-se o valor de umidade para cada uma das amostras. Para a estimativa de produtividade foi considerada uma população de 65.000 plantas ha^{-1}.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey ($P<0,05$) com o auxílio do programa SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que houve diferença significativa na maioria das variáveis analisadas, sendo que de maneira geral, os tratamentos com aplicação de *Bacillus* proporcionaram melhor desempenho as plantas de milho em comparação com o controle. Já os tratamentos com *B. methylotrophicus* e *B. subtilis* em duas aplicações via solo aos 15 e 30 DAE e *B. methylotrophicus* via semente, obtiveram uma área foliar inferior aos demais tratamentos com os bioestimulantes, mas superior ao controle (Tabela 2). Por outro lado, a altura das plantas

(ALT) e o número de espigas por plantas (NEP) não foram influenciadas pelos tratamentos (Tabela 2). Observou-se que a área foliar (AF), comprimento da espiga (CE) e diâmetro da espiga (DE) de todos os tratamentos usando as diferentes formas de aplicação de bactérias promotoras do crescimento foram superiores à testemunha, com destaque para o uso de *B. subtilis* via semente, *B. subtilis* via semente + uma aplicação via solo aos 30 DAE e *B. methylotrophicus* via semente + uma aplicação via solo aos 30 DAE que foram superiores em todos os parâmetros avaliados (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores médio de altura de plantas (ALT), área foliar (AF), número de espigas por planta (NEP), comprimento da espiga (CE), diâmetro da espiga (DE) de milho cultivar DKB 255 PRO3 cultivado com diferentes formas de aplicação de bactérias promotoras do crescimento, *Bacillus methylotrophicus* (Onix®) e *Bacillus subtilis* (Rizos®).

Tratamentos	[1]ALT (cm)^{ns}	[1]AF (m^2)**	[2]NEP^{ns}	[2]CE (cm)**	[2]DE (cm)**
Controle, sem inoculação	155,16a	0,32c	1,00a	13,18b	4,03b
Bacillus methylotrophicus via semente	157,22a	0,39b	1,00a	14,98ab	5,04a
Bacillus methylotrophicus via semente + uma aplicação via solo	160,96a	0,40a	1,00a	15,82a	5,00a
Bacillus methylotrophicus em duas aplicações via solo	153,80a	0,39b	1,00a	15,36a	5,45a
Bacillus subtilis via semente	163,60a	0,39b	1,00a	16,08a	5,61a
Bacillus subtilis via semente + uma aplicação via solo	167,60a	0,46a	1,00a	16,98a	5,78a
Bacillus subtilis em duas aplicações via solo	160,76a	0,42a	1,00a	16,50a	5,98a
Média	159,87	0,39	1,00	15,56	5,27
CV (%)	6,98	9,62	0,00	6,75	13,95

Fonte: Autoria própria.
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** ou *: significativo ao nível de 1% ou 5% de probabilidade pelo teste *F*. ^{ns}: não significativo. CV (%): coeficiente de variação. [1]: dados obtidos aos 90 DAE. [2]: dados obtidos aos 110 DAE.

As informações desse estudo corroboram com aquelas observadas por Araújo (2008), que afirma haver um incremento significativo na emergência nas culturas do algodão, soja e milho quando realizado inoculação da semente com estirpes de *B. subtilis*, além disso observou-se um aumento da área foliar e altura das plantas.

É provável que o incremento na área foliar e no crescimento das espigas estejam relacionados com a produção dos hormônios promotores do crescimento provindos dessas bactérias, tais como o ácido indolacético (AIA) e indolbutírico (AIB). Uma vez que o AIA é responsável pela regulação do crescimento e desenvolvimento da planta, apesar de todos os tecidos vegetais serem capazes de produzir baixos teores deste hormônio, a realização da biossíntese está diretamente ligada aos tecidos meristemáticos apicais do caule, folhas jovens e raízes, nesta última o processo ocorre principalmente conforme seu alongamento e maturidade (TAIZ; ZAIGER, 2013). Dentre as auxinas, o AIB é responsável pelo estímulo de formação de raízes secundárias proporcionando assim uma melhor uniformidade e fixação das plantas além do aumento da absorção de água e nutrientes.

Em relação a massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), pode-se observar na tabela 3 que houve melhores resultados no *B. subtilis* via semente + uma aplicação via solo aos 30 DAE e *B. subtilis* via semente quando as plantas atingiram os 45 e 60 dias após emergência. Enquanto aos 90 dias, o *B. subtilis* via semente + uma aplicação via solo aos 30 DAE se sobressaiu dentre as demais, sendo que a testemunha, apresentou a menor produção de MSPA.

Tabela 3 – Massa seca de raiz (MSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de milho cultivar DKB 255 PRO3 cultivado com diferentes formas de manejo da aplicação de bactérias promotoras do crescimento, *Bacillus methylotrophicus* (Onix®) e *Bacillus subtilis* (Rizos®), avaliadas aos 45, 60 e 90 dias após a emergência.

Tratamentos	MSR (g)			MSPA (g)		
	45 **	60*	90**	45**	60*	90**
	----------DAE----------					
Controle, sem inoculação	18,49b	24,33b	38,52c	35,35a	55,00b	116,46c
Bacillus methylotrophicus via semente	37,80a	23,15b	53,59a	40,12a	52,74b	137,51b
Bacillus methylotrophicus via semente + uma aplicação via solo	15,32b	21,50c	46,80b	27,71b	41,63c	142,85b
Bacillus methylotrophicus em duas aplicações via solo	20,06b	29,69b	61,64a	28,94b	55,12b	143,96b
Bacillus subtilis via semente	18,94b	22,87b	38,56c	25,07b	52,65b	113,43c
Bacillus subtilis via semente + uma aplicação via solo	23,19b	34,98b	43,28b	36,44a	59,14a	157,34a
Bacillus subtilis em duas aplicações via solo	39,99a	46,35a	55,90a	46,44a	62,54a	143,98b
Média	24,83	28,98	48,33	34,30	54,11	136,50
CV (%)	9,32	12,27	17,06	14,81	19,88	14,26

Fonte: Autoria própria.
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** ou *: significativo ao nível de 1% ou 5% de probabilidade pelo teste *F*. ^{ns}: não significativo. DAE: dias após a emergência. CV (%): coeficiente de variação.

No que se diz respeito à massa de matéria seca da raiz (MSR), o *B. subtilis* em duas aplicações via solo foi superior nas análises feitas com 45, 60 e 90 dias (Tabela 3). A produção de MSR de milho aos 45 DAE foi semelhante entre os tratamentos *B. subtilis* em duas aplicações via solo e *B. methylotrophicus* via semente. Aos 90 DAE a maior MSR foi verificada com os manejos de *B. methylotrophicus* em duas aplicações via solo, *B. subtilis* em duas aplicações via solo e *B. methylotrophicus* via semente (Tabela 3).

Destaca-se que todas as formas de manejo dos microrganismos proporcionaram os melhores resultados para o comprimento da raiz tanto aos 60 quanto aos 90 DAE em relação à testemunha (Tabela 4). Quanto ao volume do sistema radicular, aos 90 DAE, todos os tratamentos com as diferentes formas de manejo da aplicação de bactérias promotoras do crescimento, exceto o *B Bacillus subtilis* via semente, apresentaram resultados superiores ao controle (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores médio de comprimento de raízes e volume do sistema radicular de plantas de milho cultivar DKB 255 PRO3 cultivado com diferentes formas de manejo da aplicação de bactérias promotoras do crescimento, *Bacillus methylotrophicus* (Onix®) e *Bacillus subtilis* (Rizos®), avaliadas aos 45, 60 e 90 dias após a emergência.

Tratamentos	Comprimento de raízes (cm)			Volume do sistema radicular (mL)		
	45 **	60*	90**	45**	60*	90**
	----------DAE----------					
Controle, sem inoculação	53,40b	54,20b	56,30b	43,80c	51,60c	163,00b
Bacillus methylotrophicus via semente	44,22c	61,60a	62,00a	45,60c	71,40b	202,00a
Bacillus methylotrophicus via semente + uma aplicação via solo	64,00a	68,00a	70,20a	35,00d	71,00b	202,00a
Bacillus methylotrophicus em duas aplicações via solo	48,60b	60,40a	65,80a	56,00b	87,00a	212,00a
Bacillus subtilis via semente	59,70a	63,40a	66,80a	57,00b	64,00c	160,00b
Bacillus subtilis via semente + uma aplicação via solo	60,28a	64,20a	69,60a	68,00a	81,00a	217,00a
Bacillus subtilis em duas aplicações via solo	62,04a	63,40a	70,00a	66,50a	78,40b	212,00a
Média	56,03	62,17	65,81	53,12	72,05	195,42
CV (%)	10,17	8,60	9,02	10,30	19,34	19,18

Fonte: Autoria própria.
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** ou *: significativo ao nível de 1% ou 5% de probabilidade pelo teste *F*. ^{ns}: não significativo. DAE: dias após a emergência. CV (%): coeficiente de variação.

De acordo com Stolte (2019), em experimento realizado *in vitro* na cultura do arroz, com tratamentos usando *B. amyloliquefaciens* e *B. methylotrophicus*, constatou-se um aumento no comprimento da raiz em relação à testemunha, assim como no experimento em casa de vegetação com a mesma cultura observou-se um aumento da massa da matéria fresca da parte aérea. Segundo Machado *et al.* (2020), ao realizar aplicação de *B. subtilis* em plantas de milho houve um aumento significativo no crescimento do sistema radicular e no acúmulo e partição de biomassa. De modo semelhante aos autores, pode-se atribuir que esses incrementos se deve a produção de alguns hormônios por parte dessas bactérias, tais como o ácido indolacético (AIA) e indolbutírico (AIB).

Ainda é possível que este incremento na MSR está diretamente relacionado à interação destes *Bacillus* com as raízes da planta aumentando a solubilização de fosfatos minerais contribuindo para um maior crescimento radicular, isso devido ao fósforo ser um nutriente fundamental para que isso ocorra. Consequentemente, um sistema radicular mais vigoroso irá facilitar a absorção de nutrientes e água, e isso refletirá numa parte aérea mais robusta e com maior acúmulo de matéria seca (ZUCARELI *et al.,* 2018).

Observou-se que o número de fileiras por espiga (NFPE) não diferiram estatisticamente entre as diferentes formas de manejo da aplicação de bactérias promotoras do crescimento. O número de grãos por espiga (NGPE) foi maior em todos os manejos, exceto com *B. methylotrophicus*

via semente e a testemunha. O peso de 1000 grãos (P1000G) foi maior em todos foi maior em todos os manejos, exceto com *B. subtilis* via semente e na testemunha. A maior produtividade foi alcançada com *B. subtilis* via semente + uma aplicação via solo e *B. methylotrophicus* em duas aplicações via solo, totalizando um incremento superior a 30% de produtividade em relação ao tratamento controle (Tabela 5).

Tabela 5 – Número de fileiras por espiga (NFPE), número de grãos por espiga (NGPE), peso de 1000 grãos (P1000G) e produtividade de grãos (PROD) de milho cultivar DKB 255 PRO3 cultivado com diferentes formas de manejo da aplicação de bactérias promotoras do crescimento, *Bacillus methylotrophicus* (Onix®) e *Bacillus subtilis* (Rizos®), aos 110 dias após emergência da cultura.

Tratamentos	NFPE^{ns}	NGPE**	P1000G (g)**	PROD (kg ha^{-1})*
Controle, sem inoculação	14,40a	217,20b	263,86c	3.574,67c
Bacillus methylotrophicus via semente	16,00a	229,00b	304,92a	4.015,33b
Bacillus methylotrophicus via semente + uma aplicação via solo	16,80a	274,60a	301,78a	4.485,87b
Bacillus methylotrophicus em duas aplicações via solo	16,40a	256,80a	325,14a	4.712,80a
Bacillus subtilis via semente	16,80a	263,00a	296,40b	4.374,20b
Bacillus subtilis via semente + uma aplicação via solo	16,40a	285,40a	303,40a	5.182,93a
Bacillus subtilis em duas aplicações via solo	16,80a	261,00a	308,08a	4.087,60b
Média	16,22	255,37	300,51	4.347,63
CV (%)	9,57	5,18	5,63	15,32

Fonte: Autoria própria.
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ** ou *: significativo ao nível de 1% ou 5% de probabilidade pelo teste *F*. ^{ns}: não significativo. CV (%): coeficiente de variação.

Em trabalho realizado por Lima *et al*. (2011) com a cultura do milho, quando usados diferentes doses de N, com e sem inoculação da semente com *B. subtilis*, obteve-se valores de produtividade de grãos superiores quando feita aplicação igual ou acima de 120 kg ha^{-1} de N juntamente com o uso da bactéria, concluindo assim que estes microrganismos auxiliam para se ter uma melhor resposta à adubação nitrogenada.

Os dados de produtividade de grãos corroboram também os de Paiva *et al.* (2020), mostrando que usando cepas de *B. subtilis* em conjunto com *B. megaterium* mostrou eficiência no aumento da produtividade dos grãos de milho em cerca de 8,9% quando comparado à tratamentos sem o uso dessas bactérias e com adubação fosfatada.

Ao realizar experimento usando aplicação via foliar de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* na cultura do milho, Machado et al. (2020), verificaram que a inoculação do *B. subtilis* proporcionou um aumento de 14 sc/ha na produtividade, se aproximando ao observado nesse estudo. Outro ponto importante trazido pelos autores é a viabilidade e retorno econômico para os produtores, afirmando que a aplicação desta bactéria proporcionou um aumento de cerca de 11,17% da lucratividade.

Diversos estudos, como os já citados, apontam uma relação direta entre bactérias do gênero *Bacillus* e a promoção de crescimento, desenvolvimento e produção de plantas, existem diversas hipóteses a respeito desta interação, mas ainda não se tem um consenso a respeito de como ocorre. Como já foi supracitado, estudos explicam que estes microrganismos produzem fitormônios capazes de induzirem o alongamento e multiplicação das células das plantas promovendo assim este maior vigor e tamanho. Além da auxina, a giberelina e a citocinina são outros fitormônios que estão ligadas a esta interação dos *Bacillus* na rizosfera das plantas (STOLTE, 2019).

Estes hormônios vegetais são responsáveis pela regulação de crescimento, tanto da parte aérea como das raízes, sendo importantes também na germinação das sementes, floração e desenvolvimentos dos frutos. As giberelinas são sintetizadas em regiões de crescimento, ápices de caule e raízes, sementes em germinação e também ocorre síntese em alguns fungos e bactérias. As citocininas tem como seu principal sítio de biossíntese o meristema apical da raiz, são responsáveis pela divisão celular, participando também do alongamento e diferenciação celular principalmente quando há interação com a auxina (VIEIRA *et al.,* 2010).

Em relação a ação da citocinina, seus efeitos irão depender de sua concentração na planta, em trabalho realizado com plântulas de lúpulo, a cinetina estimulou o aumento da massa seca e alongamento das raízes, por outro lado, quando adicionou-se doses maiores inibiu-se os dois processos (VIEIRA *et al.,* 2010). Este pode ser o motivo para que os tratamentos com uso em maior quantidade dos bioestimulantes, como aqueles com aplicações adicionadas aos 15 e 30 DAE, apresentarem resultados um pouco inferiores àqueles usados apenas na semente e outra dose com 30 dias.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *B. subtilis* com o manejo via semente + uma aplicação via solo aos 30 DAE e o *B. methylotrophicus* manejado com duas aplicações via solo aos 15 e 30 DAE, proporcionaram maior produtividade de grãos de milho.

A inoculação do *B. subtilis* via semente, proporcionou maior crescimento das plantas de milho.

As bactérias *B. subtilis* e *B. methylotrophicus* se mostraram eficientes tanto no crescimento como na produção da cultura de milho, sendo indicados para o uso no cultivo visando melhor desempenho agronômico.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.2, p.456-462, 2008.

BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. **Milho: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: 2. ed. UFV, 2017.

BUCHELT, A. C.; METZLER, C. R.; CASTIGLIONI, J. L.; DASSOLLER, T. F.; LUBIAN, M. S. Aplicação de bioestimulantes e *Bacillus subtilis* na germinação e desenvolvimento inicial da cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 6, n. 4, p. 69-74, 2019.

CONAB **- Companhia Nacional De Abastecimento**. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, safra 2022/23, n. 6. Sexto levantamento, março 2023. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos. Acesso em: 09 fev. 2023.

CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGHI, E.; MIRANDA, R. A.; SILVA, A. F.; SILVA, D. D.; MACHADO, J. R. A.; COTA, L. V.; COSTA, R. V.; MENDES, S. M. Milho: caracterização e desafios tecnológicos. Brasília, DF: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2019. 45 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo.** 3 ed. rev. e ampl. – Brasília, DF: Embrapa, 2017. 573 p.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

HUNT, R. **Basic growth analysis.** London: Unuin Hyman, Academic Division of Unwin Hyman Ltd., 1990, 112p.

LIMA, F. F; NUNES, L.A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B.; ARAÚJO, F. F.; LIMA, L. M.; ARAÚJO, A. S. F. *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.4, p.657-661, 2011.

MACHADO, R. W. B; CALVI, V. O.; PACCOLA, E. A. S.; SCHMDIT FILHO, E.; GASPAROTTO, F. Inoculação foliar de plantas de milho com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*. **Revista Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.17, n.34, p. 289, 2020.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; SOSSAI, B. F.; ARAUJO, F. F. Inoculação de *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Revista Colloquium Agrariae**, v. 10, n.2, p.40-47, 2014.

MONNERAT, R.; MONTALVÃO S. C. L.; MARTINS, E. S.; QUEIROZ, P. R. M.; SILVA, E. Y. Y.; GARCIA, A. R. M.; CASTRO, M. T.; ROCHA, G. T.; FERREIRA, A. D. C. L.; GOMES, A. C. M. M. Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura. Brasília, DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2020. 46 p.

OLIVEIRA, E. F**. Utilização de microrganismos e torta de filtro em cana-de-açúcar cultivada em áreas com nematoides**. 2018. Tese (Doutorado) – Curso de Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2018.

PAIVA, C. A. O.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; COTA, L. V.; SANTOS, F. C.; TINOCO, S. M. S.; LANA, U. G. P.; OLIVEIRA, M. C.; MATTOS, B. B.; ALVES, V. M. C.; RIBEIRO, V. P.; JUNIOR, R. V. Recomendação agronômica de cepas de *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) na cultura do milho. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2020. 18 p.

STOLTE, L. M. **Influência de *Bacillus* spp. na promoção de crescimento de plantas de arroz.** Trabalho de conclusão de curso – Curso de Agronomia, Universidade Federal do Pampa. Itaqui, p. 30. 2019.

STOLTE, L.; SCHNEIDER, C. M. C.; MARENGO, R. P.; PINHO, R. S. C.; POZZEBON, B C. Uso de produtos biológicos para promoção de crescimento de plântulas de arroz. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 11, n. 2, 30 mar. 2020.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento vegetal.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 735-736.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 5 ed. Porto Alegre: Artamed, 2013.

VALDERRAMA, M.; BUZETTI, S.; TEIXIERA FILHO, M. C. M.; BENETT, C. G. S.; ANDREOTTI, M. Adubação nitrogenada na cultura do milho com ureia revestida por diferentes fontes de polímeros. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 659-670, 2014.

VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R.; SANTOS SILVA, J. **Manual de fisiologia vegetal.** São Luis: EDUFMA, 2010. 230 p.

ZENZEN, I. L.; AMARANTE, L.; COLARES, D. S.; OLIVEIRA, M. L.; BERNARDI, E.; COSTA, E. L. G.; NASCIMENTO, J. S. Área Foliar e Volume do Sistema Radicular em Plantas de Soja Inoculadas com Estirpes de *Bradyrhizobium* e Submetidas ao Alagamento. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 1092-1094, 2007.

ZUCARELI, C.; BARZAN, R. R.; SILVA, J. B.; CHAVES, D. P. Associação de fosfatos e inoculação com *Bacillus subtilis* e seu efeito no crescimento e desempenho produtivo do feijoeiro. **Revista Ceres**, v. 65, n. 2, p. 189-195, 2018.

Recebido em: *07 de julho 2023*

Aceito em: *13 de abril 2024*