

Efeitos da utilização de microrganismos eficientes (EM) sobre a cultura do milho (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé orgânico.

Effects of the use of efficient micro-organisms (EM) on the cultivation of corn (*Zea mays* L.) organic BRS Caimbé variety.

RESUMO

Este trabalho objetivou coletar, isolar e verificar a ação de Microrganismos Eficientes (EMs) em cultura do milho (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé orgânico. A produção dos EMs se deu a partir de 3 solos diferentes, com contagem de células viáveis e diferenciações morfológicas. Ainda, foram avaliados os EMs de comerciais. A análise de desenvolvimento vegetal ocorreu em vasos de 3L, contendo solo de área agrícola da UTFPR-DV e 10 sementes de milho cada. Os tratamentos utilizando os diferentes EMs ocorreram anteriormente e após o plantio do milho, na proporção de 1:1000. O número de bactérias totais e bactérias ácido-láticas foi maior na solução comercial, entretanto a contagem de fungos foi maior em uma das preparações realizadas. Verificou-se 9 tipos morfológicos bacterianos e 3 fúngicos. Sobre os parâmetros agrônômicos, somente o crescimento radicular foi significativo, onde nas plantas do tratamento com EM3 foram observadas raízes 23,64% maiores em relação ao grupo controle. Assim, foi possível visualizar que os EMs produzidos mostraram um efeito positivo no desenvolvimento da planta, principalmente no que se trata do crescimento radicular, neste quesito, os microrganismos preparados tiveram efeito superior ao comercial, representando uma alternativa viável e de baixo custo para a produção vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: Agricultura Sustentável. Ecologia agrícola. Micro-organismos do solo.

ABSTRACT

This work aimed to collect, isolate and verify the action of Efficient Microorganisms (EM) in corn culture (*Zea mays* L.) BRS Caimbé organic variety. The production of EM was developed from 3 different soils, with viable cell counts and morphological differentiations. Also, the commercial solution of EMs were evaluated. The analysis of vegetal development occurred in 3L pots, containing soil of agricultural area of UTFPRDV and 10 seeds of corn each. The treatments using the different EMs occurred before and after the corn planting, in the proportion of 1:1000. The analysis of vegetal development occurred in 3L pots, containing soil of agricultural area of UTFPR-DV and 10 seeds of corn each. The treatments using the different collected MSs, besides the commercial one, occurred before and after the corn planting, in the proportion of 1:1000. The number of total bacteria and acid-lactic bacteria was higher in the commercial solution, however the fungus count was higher in one of the preparations performed. There were 9 bacterial

Alex Batista Trentin
a.trentinx@gmail.com
Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Dois
Vizinhos, Paraná, Brasil

Zélia Nathely Baseggio Ávila
zelia.baseggio@gmail.com
Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Dois
Vizinhos, Paraná, Brasil

Deborah Catharine de Assis
Leite
deborahleite@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Dois
Vizinhos, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



morphological types and 3 fungi. Regarding agronomic parameters, only the root growth was significant, where in the plants of the EM3 treatment 23.64% larger roots were observed in relation to the control group. EMs showed a positive effect in the development of the plant, mainly in what it deals with the root growth, in this aspect, the prepared microorganisms had a superior effect to the commercial one, representing a viable alternative and of low cost for the plant production.

KEYWORDS: Sustainable Agriculture. Agricultural ecology. Soil microorganisms.

INTRODUÇÃO

Os micro-organismos eficientes (EMs), também chamados de eficazes, são estudados desde 1970, na universidade de Ryukyus, Okinawa, Japão, pelo Dr. Teruo Higa (NAMSIVAYAM; NARENDRAKUMAR; KUMAR, 2011). Os EMs são comunidades microbianas, encontradas em solos férteis, e fazem parte do grupo dos micro-organismos regenerativos, produzindo substâncias orgânicas, hormônios e vitaminas, assim, sendo capazes de conferir melhora nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, dentre outras aplicações (BONFIM, 2011).

O aumento na intensidade do uso do solo pode causar diversos processos de degradação, devido a utilização de máquinas e produtos químicos. Assim, a presença de ácidos orgânicos, hormônios vegetais, vitaminas, enzimas, dentre outros compostos, se torna necessária para o ótimo crescimento de plantas no solo. Desta forma, os EMs são uma ótima alternativa para o tratamento destes solos, pois são capazes de produzir estes compostos, permitindo o melhor desenvolvimento de plantas (GUIA, 2018; MÜLLER; MEINERZ, 2011).

Neste contexto, as atividades realizadas neste projeto objetivaram a preparação e quantificação dos Microrganismos Eficientes (EM), de diferentes locais de coleta, bem como de EMs vendidos comercialmente. Além de verificar a atividade destes organismos sobre o desenvolvimento do milho (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé orgânico.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta dos microrganismos eficientes (EM) se baseou em duas metodologias: Sendo a primeira realizada no solo de 3 ambientes diferentes: Trilha Ecológica da UTFPR-DV (EM1); e de duas Reservas Legais de propriedades rurais do município de São Jorge d'Oeste, Paraná (EM2 e EM3). Em garrafas de plástico cortadas, foram dispostos 700g de arroz, previamente cozido, coberto por uma tela de pano. Após, foram mantidos em solo por aproximadamente 15 dias. Para a segunda metodologia, amostras de solo foram retiradas e dispostas em caixas plásticas, juntamente com o arroz cozido, para a coleta dos EMs (EMBON). Ainda, foi utilizado também uma formulação comercial de EMs (EMCOM), vendido pela empresa Emagritec Sul®.

A ativação, por meio de processo fermentativo, ocorreu igual para os dois primeiros casos, onde o arroz colonizado com os EMs (após os 15 dias em contato com o solo), foi disposto em garrafas plásticas juntamente com 200g de açúcar

mascavo e o volume da garrafa completado com água fervida. No caso do EMCOM, a formulação comercial solicita a ativação com melado e água fervida.

Contagem, Isolamento E Caracterização Morfológica De Fungos E Bactérias

As culturas de microrganismos eficientes (EM) foram submetidas às técnicas de isolamento e contagem de células microbianas viáveis. O isolamento de fungos foi realizado em meio de cultura BDA + Cloranfenicol (0,05g/L) e de bactérias em meio de cultura Ágar nutriente + Cetaconazol (0,05mg/mL) e MRSA, específico para bactérias ácido-láticas.

Os diferentes tipos de EM, foram submetidos a uma diluição seriada em solução salina a 0,9%, e semeados, em triplicata, em placas de Petri com meio de cultura. As placas foram incubadas a 25°C por 48 horas (bactérias) e 5-7 dias (fungos). Após esse período foi feita a contagem das unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) sendo que as placas com 30-300 colônias foram usadas para a contagem, no qual foi retirada a média e o desvio padrão.

Além da contagem total de colônias isoladas das soluções de microrganismos preparadas, ainda foram isoladas e contabilizadas as diferentes morfologias de colônias crescidas nos diferentes meios de cultivo, assim sendo possível conhecer a quantidade de diferentes organismos presentes dentro da cultura. Este procedimento foi realizado com auxílio de lupas e microscópios.

Aplicação dos EMS na cultura de *Zea mays L.*

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da UTFPR-DV. O modelo vegetal adotado foi o milho híbrido (*Zea mays L.*) orgânico, variedade BRS Caimbé de ciclo precoce, desenvolvida para a agricultura familiar (PACHECO et al., 2009), as sementes foram doadas pela empresa GEBANA BRASIL localizada no município de Capanema - PR.

Os tratamentos seguiram delineamento experimental inteiramente casualizado, com desenho fatorial baseado na presença e ausência de EMs, oriundos de diferentes locais de coleta, preparados a partir de adaptações da metodologia de Bonfim et al. (2011), com cinco repetições para cada tratamento. Também foi realizado tratamento utilizando EM comercial, comprado da empresa Emagritec Sul®, conforme a tabela 1.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados

Amostra	Tratamento
EM0	Sem solução de microrganismos eficientes.
EM1	Solução EM1, adaptado Bonfim et al. (2011)
EM2	Solução EM2, adaptado Bonfim et al. (2011).
EM3	Solução EM3, adaptado Bonfim et al. (2011)
EMBON	Solução EMBON, método Bonfim et al. (2011).
EMCOM	EM comercializados pela empresa Emagritec Sul®.

Fonte: Autoria própria (2020)

Para a montagem do experimento, o solo utilizado foi coletado de uma área agrícola da UTFPR - DV. Vasos com capacidade de 3 litros foram lavados e completados com solo, após receberem identificação conforme o tratamento utilizado (Figura 1). Na mesma data foi realizada a primeira aplicação das soluções de microrganismos eficientes (EM) diluídos na proporção 1:1000, segundo as recomendações de Bonfim e colaboradores (2011). O tratamento controle recebeu o mesmo volume de água.

Figura 1 – Montagem do experimento



Fonte: Autoria própria (2020)

Decorridos sete dias, foram adicionadas 10 sementes de milho em cada vaso, plantadas na profundidade de 5 cm, e novamente os vasos receberam as soluções de EM segundo as recomendações de Bonfim et al. (2011), o qual cada vaso de cada tratamento recebeu um volume de 500ml de EM dissolvido. O tratamento controle recebeu o mesmo volume de água.

Decorridos sete dias do plantio, cada vaso recebeu 500ml de EM dissolvido (volume necessário para atingir o ponto de escorrimento), nesta ocasião algumas plantas já haviam emergido. Após quinze dias do plantio a quarta e última aplicação de EM foi realizada, cada vaso recebeu 500ml de EM dissolvido.

Desenvolvimento vegetal

Ao final de 25 dias, após o plantio das sementes, as plantas foram submetidas a avaliação de desenvolvimento, sendo determinada o comprimento da parte aérea e raiz, bem como a determinação de massa fresca e seca de parte aérea e raiz. Os resultados obtidos passaram por análise estatística utilizando o programa R 3.6.1®.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Contagem e isolamento microbiano

Para as bactérias totais houve diferença significativa entre todos os preparos de EM ($p < 0,05\%$) sendo que o EM COM teve a maior contagem de células viáveis. Para bactérias produtoras de ácido lático, o maior número de UFC/ml encontrado também foi no preparo comercial, seguido dos preparos EM1 e EMBON que não diferiram significativamente ($p > 0,05\%$). Já para a contagem de fungos, o EMBON obteve a maior número de células viáveis, os preparos EM1 e EMCOM tiveram a segunda maior média e, por fim, os preparos EM2, EM3 e EMBON não diferiram entre si ($p > 0,05\%$)

Tabela 2 - Contagem de microrganismos

EM	Bactérias totais Log(UFC/ml)	Bactérias lácticas Log(UFC/ml)	Fungos Log(UFC/ml)
1	5,27±0,06 c*	5,33 ± 0,05 b*	4,04±0,08 b*
2	6,22±0,09 b	5,05 ± 0,04 c	4,78± 0,94a
3	4,01±0,12 d	4,25± 0,10 d	5,07 ± 0,03a
BOM	3,74±0,09 e	5,30 ± 0,05b	5,30±0,05a
COM	8,29 ± 0,09 a	8,45 ± 0,09a	3,94±0,14 b
CV**	1,72	1,24	9,25
(λ)***			2,875

*Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$).

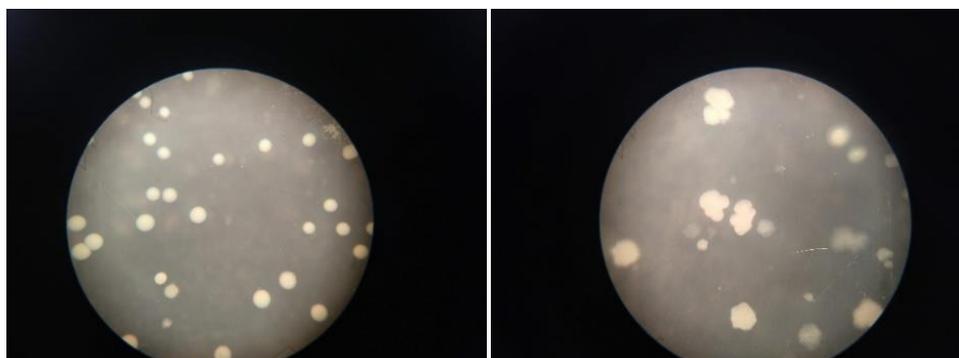
** CV: Coeficiente de variação. *** Variável com valor de λ presente demonstra que os dados foram transformados por Box e Cox (1964).

Fonte: Autoria própria (2020)

Contagem De Diferentes Morfologias

Houveram variações para as morfologias, tanto de bactérias, quanto para fungos, devido à variedade de microrganismos presentes nas culturas de EM (MOUHAMAD, et al., 2016). Para bactérias houve a diferenciação de 9 tipos morfológicos, enquanto para fungos foi possível visualizar somente 3 morfologias diferentes. Assim, é possível visualizar que a incidência de tipos morfológicos bacterianos na solução de Microrganismos Eficientes é maior do que a de fungos. A figura 2 representa a diferenciação de tipos morfológicos em imagens microscópicas.

Figura 2 – Diferenciação de tipos morfológicos



Fonte: Autoria própria (2020)

Desenvolvimento Vegetal

A utilização de diferentes preparos de culturas de microrganismos eficientes (EM) aplicados na proporção 1:1000 com uma aplicação sete dias antes do plantio e três aplicações a cada sete dias pelo período de três semanas a partir da semeadura, mostrou diferença significativa apenas para comprimento de raiz, para os demais parâmetros não houve diferença significativa entre os tratamentos após 25 dias do plantio (tabela 3). As plantas que receberão tratamento com EM1 não foram incluídos nos resultados, pois as parcelas não apresentavam homogeneidade.

Plantas tratadas com o EM3 obtiveram o maior efeito sobre o sistema radicular, comparado com demais tratamentos, sendo que o aumento em relação ao controle foi de 23,64%. O aumento no sistema radicular, após a aplicação dos EMs, pode ser embasado pela melhora nas condições químicas, físicas e biológicas do solo, devido ao potencial regenerativo dos microrganismos (GUIA, 2018; DALY; STEWART, 2008).

Tabela 3 – Condições das plantas após aplicação dos EMs

EM	Altura de planta (cm)	Comp. raiz (cm)	MMF aérea (g)	MMF raiz(g)	MMS aérea (g)	MMS raiz (g)
0	72,10±0,8ns	47,74 ±5,0bc*	9,91±3,4ns	1,15±0,4ns	2,60±0,9ns	0,37±0,1ns
2	80,02±5,0	51,18 ± 3,4ab	10,11±2,3	1,04±0,3	2,54±0,4	0,43±0,1
3	80,78±1,5	59,03± 3,2a	8,05±1,8	1,21±0,3	2,12±0,4	0,45±0,1
BON	77,04±5,5	40,78±4,0 c	9,85±2,0	0,83±0,2	2,46±0,7	0,35±0,1
COM	72,38±5,0	53,2 ±6,0ab	13,72±4,0	1,12±0,5	2,46±0,5	0,43±0,1
CV**	7,32	11,71	8,23	40,16	33,51	36,52
box-cox (λ)***			-0.5			

*Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). ** CV: Coeficiente de variação. *** Variável com valor de λ presente demonstra que os dados foram transformados.

Fonte: Autoria própria (2020)

CONCLUSÃO

Os microrganismos eficientes (EM) caseiros apresentaram efeito positivo significativo comprimento da raiz nas fases iniciais do desenvolvimento da planta, e superior ao preparo comercial. Isto demonstra que o preparo de EM representa uma alternativa viável à substituição de insumos químicos em propriedades rurais que buscam a sustentabilidade, da mesma forma que equivalem à uma importante ferramenta social, uma vez que sua produção pode ocorrer dentro das propriedades exigindo pouca mão-de-obra e baixo custo para a sua produção.

Pode-se observar também que as bactérias aparecem com maior diversidade na solução de EMs produzida, assim sendo necessário maiores estudos para validar esta comparação.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR e a Fundação de apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná (Fundação Araucária).

REFERÊNCIAS

BONFIM, F. P. G. et al. **Caderno dos microrganismos eficientes (EM): instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM**. 2. ed. Universidade Federal de Viçosa: Departamento de Fitotecnia, 2011.

DALY, M. J.; STEWART, D. P. C.. Influence of “Effective Microorganisms” (EM) on Vegetable Production and Carbon Mineralization—A Preliminary Investigation. *Journal Of Sustainable Agriculture*, [S.L.], v. 14, n. 2-3, p. 15-25, 16 jul. 2008.

GUIA, Ana P. O. M. **Produtividade de Milho Verde Cultivado em Sucessão a Adubação Verde com Aplicação de Microrganismos Eficientes, nas Condições de Matias Barbosa, MG**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2018.

MOUHAMAD, Raghad S.; et al. Impact of effective microorganisms actuate (EMa) on development of Barley, Corn and Chard plants. **Current Science Perspectives**. Iraq, v. 3, n. 1, p. 60-66. 2016

MÜLLER, Sidinei F.; MEINERZ, Cristiane C. Doses de adubação e inoculação de sementes de milho com EM-4 em sistema de cultivo orgânico. **Cadernos de Agroecologia**. Vol 6, No. 2, Dez 2011.

NAMSIVAYAM, S. Karthick Raja; NARENDRAKUMAR, G.; KUMAR, J. Arvind. Evaluation of Effective Microorganism (EM) for treatment of domestic sewage. **Journal Of Experimental Sciences**, Chennai, v. 2, n. 7, p.30-32, 2011.