

## **Germinação e Desenvolvimento inicial de plântulas de milho em função da inoculação das sementes com diferentes volumes de inoculante**

Jucenei Frandoloso<sup>1</sup>; João Alexandre Lopes Dranski<sup>1</sup>; Vandeir Francisco Guimarães<sup>1</sup>, Artur Soares Pinto Junior<sup>1</sup>; Karoline Branco Bandeira<sup>1</sup>; Luis Claudio Offemann<sup>1</sup>, Luan Fernando Ormond Sobreira Rodrigues<sup>1</sup>; Mônica Bartira da Silva<sup>1</sup>; Adriano Mitio Inagaki<sup>1</sup>; Wylliam Pozzebom<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidades Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Marechal Cândido Rondon, PR. artur\_bio@hotmail.com e karoline\_bandeira@hotmail.com <sup>2</sup>Empresa Simbiose Indústria e Comercio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos LTDA, Cruz Alta, RS.

**RESUMO** – Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da inoculação de sementes de milho com diferentes volumes de inoculante contendo a estirpe Ab-V5 da bactéria *Azospirillum brasilense*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições contendo 25 sementes e cinco tratamentos: 0, 2, 4, 6 e 8 mL de inoculante para 1000 sementes. A variedade de milho utilizada foi a Ocepar 202, sendo que após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram semeadas em bandejas preenchidas com areia esterilizada e acondicionadas em câmara de germinação (BOD) com temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 8 horas durante sete dias. Foram determinadas a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de emergência (IVE), e após sete dias avaliou-se o diâmetro de colmo, altura de plântula, massa seca de raiz, massa seca da parte aérea e volume de raiz. Pode se observar que houve influência da inoculação das sementes com *A. brasilense* no desenvolvimento das plântulas, em função dessas terem resultado em maior diâmetro do colmo, altura de planta, maior massa seca da parte aérea, massa seca de raízes, maior índice de velocidade de emergência e porcentagem de germinação em função dos diferentes volumes de inoculante aplicado.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., germinação, *Azospirillum brasilense*, fixação biológica de nitrogênio.

### **Introdução**

Os cereais são à base da alimentação para a maior parte da população mundial, principalmente as mais carentes. È estimado que, aproximadamente, 60 % da alimentação seja constituída por arroz, trigo e milho (REIS et al, 2000). A cultura do milho tem grande importância no cenário agrícola brasileiro, com aproximadamente 13.806 mil hectares cultivados na safra 2010/2011, com uma produção em torno de 57.406 mil toneladas (CONAB, 2012), sendo que a produção destinada ao consumo animal varia de 60 a 80% (FANCELLI & DOURADO NETO, 2003).

Com a intensidade de crescimento do agronegócio brasileiro, a demanda por fertilizantes, principalmente nitrogenados, tem aumentado substancialmente, juntamente com elevada demanda de alimentos e produtos agrícolas implicam, portanto, em maiores demandas

de fertilizantes a base de nitrogênio. Por ser um nutriente com elevado dinamismo no sistema solo-planta, o manejo adequado do nitrogênio é conhecido como um dos mais difíceis (SANTOS et al., 2003), sendo necessário que este seja fornecido à planta de forma adequada afim de maximizar sua absorção.

Como alternativas para minimizar os problemas com aplicação de fertilizantes nitrogenados diversas tecnologias vêm sendo desenvolvidas. Nos últimos 20 anos foram descobertas as potencialidades das bactérias diazotróficas microaeróbias, do gênero *Azospirillum*, fixadoras de nitrogênio atmosférico, quando em vida livre (BODDEY & DOBERËINER, 1995) as quais, quando associadas à rizosfera das plantas podem, possivelmente, contribuir com a nutrição nitrogenada, o que tem despertado grande interesse por parte de pesquisadores em biologia e fertilidade do solo (CAVALLET, 2006).

Essas bactérias possuem o complexo da enzima nitrogenase, que é capaz de reduzir o nitrogênio molecular ( $N_2$  atmosférico) em amônia ( $NH_3$ ) que em pH celular rapidamente se converte em amônio ( $NH_4$ ) que é então assimilado pela planta para constituir clorofilas, aminoácidos, entre outros compostos orgânicos (EPSTEIN & BLOOM, 2006; REIS et al., 2006; TAIZ & ZEIGER, 2006). Esses microrganismos podem sintetizar fitormônios que aumentam a taxa de respiração e metabolismo e a proliferação das raízes, promovendo melhor absorção de água e de nutrientes pelas plantas (OKON & ITZIGSOHN, 1995).

Há autores que indicam os efeitos desses microrganismos sobre o desenvolvimento das plantas são amplos, incluindo os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento das plantas (LAZARETTI & BETTIOL, 1997)

Neste sentido, o presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos de diferentes volumes de inoculante à base de *Azospirillum brasilense* estirpe Ab-V5 no desenvolvimento de plântulas de milho.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, em 2011. O material vegetal utilizado foram sementes de milho da variedade Ocepar 202.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições de 25 sementes. Os tratamentos são os descritos a seguir: 0, 2, 4, 6 e 8 mL para 1000 sementes de milho, do inoculante à base de *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5 contendo  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, fornecido pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia –

INCT de fixação biológica de nitrogênio, com sede no departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, da Universidade Federal do Paraná.

Após a inoculação das sementes com as diferentes concentrações do inoculante testado, essas foram semeadas em bandejas contendo como substrato areia esterilizada em autoclave, e acondicionadas em câmara de germinação (BOD) sob temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 8 horas de luz.

Realizou-se a duas regas no substrato com da solução nutritiva descrita por Hoagland e Arnon (1950), excluindo-se o nitrogênio.

Foram avaliados a percentagem de germinação das sementes, realizada pela contagem das plântulas emergidas, também foi determinada o índice de velocidade de emergência (IVE) MAGUIRE (1962), realizando a contagem diariamente das plântulas emergidas, considerando aquelas que emergiram sob a superfície do substrato. Após sete dias da realização da semeadura, foram mensuradas a altura de planta, diâmetro do coleto, volume de raiz e a massa seca da parte aérea e de raízes, essas realizadas após secagem em estufa de circulação forçada de ar, por 72 horas a 65°C.

Os dados foram submetidos à análise de variância pela estimativa F de Fisher-Snedecor e quando detectadas diferenças significativas, procedeu-se com o teste de comparação de médias por Tukey a 5% de probabilidade.

### **Resultados e Discussão**

Pôde-se observar diferenças significativas a 5% de probabilidade para todas as variáveis analisadas, demonstrando efeito dos diferentes volumes de inoculante, observados nas figuras 1 e 2.

Na figura 1 pode-se observar valores superiores para volume de raiz nos tratamentos com 6 e 8 mL 1000 sementes<sup>-1</sup> do inoculante, sendo que a dose de 8 mL apresentou resultados superiores para massa seca de raízes. Estudos demonstraram que os efeitos positivos proporcionados por estes microrganismos são, principalmente, derivados de alterações morfológicas e fisiológicas nas raízes das plantas inoculadas, acarretando um incremento na absorção de água e nutrientes (OKON & VANDERLEYDEN, 1997).

Para a variável altura de plantas a dose de 8 mL 1000 sementes<sup>-1</sup> do inoculante, foi superior aos demais tratamentos, e o mesmo resultado foi encontrado para massa seca de parte aérea e diâmetro do coleto. Provavelmente a maior produção de matéria seca e o acúmulo de

nutrientes por plantas inoculadas sejam devidos à produção de substâncias promotoras de crescimento pelas bactérias, entre elas auxinas, giberilinas e citocininas, e não somente a fixação biológica de nitrogênio (CAVALLET, 2000).

Didonet et al. (1996), informam que são muitas as evidências de que a inoculação das sementes de milho com *Azospirillum brasilense* seja responsável pelo aumento da taxa de acúmulo de matéria seca, principalmente na presença de elevadas dosagens de nitrogênio, o que pode estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas fotossintéticas e de assimilação de nitrogênio.

Ao observar-se a figura 2 (a), para a variável porcentagem de germinação o tratamento com 8 mL da bactéria não se diferiu estatisticamente da dose zero, porém foi o único volume de inoculante testado que atingiu o nível mais alto quando comparado aos outros volumes de inoculante (0, 2, 4 e 6 mL 1000 sementes<sup>-1</sup>). Já para o índice de velocidade de emergência Figura 2 (b), o maior volume de inoculante mostrou-se superior aos demais tratamentos.

Conceição et al. (2008), observaram que a inoculação com bactérias diazotróficas em milho embora não tenha afetado a germinação das sementes, aumentou o desenvolvimento da parte aérea das plantas, sem promover aumento da massa seca da parte aérea, provavelmente devido à ação das bactérias sobre o alongamento celular, pela turgescência vacuolar.

Diante do exposto pode-se observar que o volume de inoculante de 8mL 1000 sementes<sup>-1</sup>, contribuiu para o melhor desenvolvimento de altura de planta, diâmetro de coleto, volume de raiz, índice de velocidade de emergência e massa seca da parte aérea podendo ser adotado para cultivos de milho para promover o crescimento vegetal.

#### **Literatura Citada**

BODDEY, R.M.; DÖBEREINER, J. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent progress and perspectives for the future. *Fertilizer Research*, Oxford, v.42, p.241-250, 1995.

CAVALLET, Luiz E. et al. Melhoria da fertilidade do solo decorrentes da adição de água residuária da indústria de enzimas. *Rev. bras. eng. agríc. ambient.* vol.10, n.3, pp. 724-729. ISSN 1807-1929, 2006.

CAVALLET, Luiz E. et al. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum spp.*. *Rev. bras. eng. agríc. ambient.* vol. 4, n.1, p.129-132, 2000.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra Brasileira: grãos, *oitavo levantamento maio 2012*/ Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília: Conab, 2012.

CONCEIÇÃO, P.M.; VIEIRA, H.D.; CANELLAS, L.P.; MARQUES JUNIOR, R.B.; OLIVARES, F.L. ecobrimento de sementes de milho com ácidos húmicos e bactérias diazotróficas endofíticas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.43, n.4, p.545-548, 2008.

DIDONET, A.D.; RODRIGUES, O; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasiliense*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.16, n.9, p.645-651, 1996.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. 2. ed. Tradução de Maria Edna Tenório Nunes. Londrina: Ed Planta, 2006. 403 p. Título original: *Mineral nutrition of plants*.

FANCELLI, A. L.: DOURADO NETO, D. *Cultura do milho: Estratégias de Manejo para altas produtividades*, Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 208 p. 2003.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.T. *The water culture method for growing plants without soil*. Berkely: California Agriculture Experiment Station, 1950. 32p. (University of California. Circular 347).

LAZZARETI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto formulado a base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 54, p. 89-96, 1997.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, Wis., 2(2):176-177, 1962.

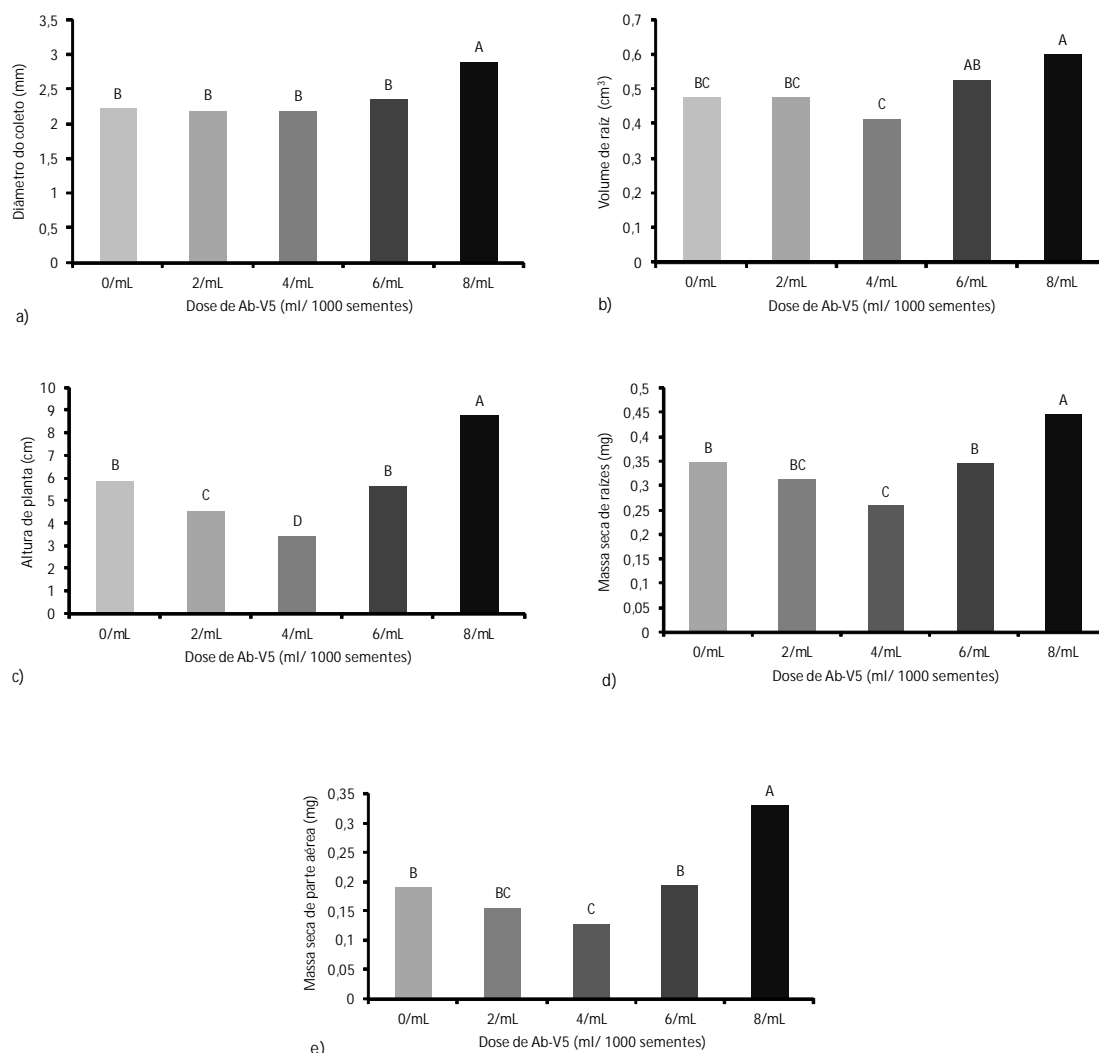
OKON, Y.; ITZIGSOHN, R. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yield. *Biotechnology Advances*, v. 13, p. 415-424, 1995.

OKON, Y. & VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants. *ASM News*, 63:364-370, 1997.

REIS, V.B; BALDANI, J.L. DOBEREINER, J. Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. *Critical Reviews in Plant Science*, Philadelphia, v. 19, n. 3, p. 227-247, 2000.

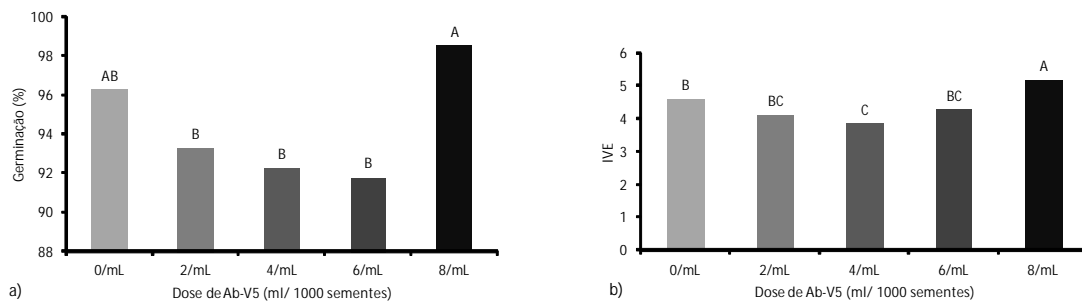
SANTOS, A. B.; FAGERIA, N. K.; SILVA, O. F.; MELO, M. L. B. Resposta do feijoeiro ao manejo de nitrogênio em várzeas tropicais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v.38, n.1, p.1265-1271, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 3 ed. Porto Alegre: ARTMED, 2006, 719p.



**Figura 1.** Diâmetro do coleto (a), volume de raiz (b), Altura de planta (c), massa seca das raízes (d) e massa seca de parte aérea (e), de plântulas de milho aos 7 dias após a semeadura em substrato areia esterilizada e irrigadas com solução nutritiva excluindo-se nitrogênio, Uniãoeste, Marechal Cândido Rondon-PR, 2012.

\*Barras com as mesmas letras não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.



**Figura 2.** Porcentagem de germinação (a) e índice de velocidade de emergência (b) de plântulas de milho aos 7 dias após a sementeira em substrato areia esterilizada e irrigadas com solução nutritiva excluindo-se nitrogênio, Unioeste, Marechal Cândido Rondon-PR, 2012\* Barras com as mesmas letras não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.