

DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE MILHO EM RESPOSTA AO TRATAMENTO DE SEMENTES COM *Azospirillum brasilense*

INITIAL DEVELOPMENT OF MAIZE PLANTS IN RESPONSE TO TREATMENT SEEDS WITH *Azospirillum brasilense*

VITOR, V. T. C.¹; VIEIRA, J. C. M.¹; OTOBONI, C. E. M.²; SILVA NUNES, J. G.¹; NOUCHI, E. H.¹; NUNES, J. G. S.³

¹Graduando em Agronomia-Faculdades Integradas de Ourinhos, SP/FIO/FEMM

²Docente do curso de Agronomia-Faculdades Integradas de Ourinhos, SP/FIO/FEMM

³Mestrando em Agronomia- UNESP-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, SP

RESUMO

A inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* é uma técnica promissora e sustentável para o fornecimento de nitrogênio na cultura do milho. Contudo, ainda são necessários estudos que visam compreender os efeitos no comportamento da planta. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inoculação com *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial de plantas de três híbridos de milho. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com sete repetições. Os tratamentos foram 3 híbridos de milho (DKB 290, SYN 7G17 e MG 30A37 PW), com ou sem inoculação por *Azospirillum brasilense*. Aos 36 dias após o plantio foram avaliados os seguintes parâmetros: diâmetro de colmo; comprimento de raiz; matéria fresca de raiz, parte aérea e da planta inteira; matéria seca de raiz, parte aérea da planta inteira. A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, nas condições desse estudo, não influenciou o crescimento inicial das plantas.

Palavras-chave: *Zea mays*. Fixação biológica. Nitrogênio

ABSTRACT

Inoculation of seeds with *Azospirillum brasilense* is a promising and sustainable technique for the supply of nitrogen in corn. However, further studies are needed aimed at understanding the effects on the behavior of the plant. The aim of this study was to evaluate the influence of inoculation with *Azospirillum brasilense* on initial development of corn plants of different hybrids. The experimental design was completely randomized in a 3x2 factorial scheme, with seven repetitions. The treatments were three corn hybrids (DKB 290, SYN and 7G17 MG 30A37 PW), with or without inoculation of *Azospirillum brasilense*. After 36 days the plants were evaluated for these parameters: stem diameter; root length; fresh matter of root, shoot and whole plant; dry matter of root, shoot and whole plant. Inoculation of maize seeds with *Azospirillum brasilense*, in the conditions of this study, did not influence the initial growth of the plants.

Keywords: *Zea mays*. Biological fixation. Nitrogen.

INTRODUÇÃO

O milho é o cereal mais cultivado nacionalmente, tendo grande parte da sua produção destinada a demanda interna, com o seu consumo utilizado na alimentação humana e animal. A longo prazo, as estimativas são de ampliação na demanda por este cereal (OCDE/FAO, 2015), gerando a necessidade de implementar técnicas que proporcionam aumentos na sua produtividade, contribuindo para uma agricultura mais sustentável.

Os avanços biotecnológicos também estão associados a inoculação de novas estirpes de bactérias em diferentes cultivares, como a *Azospirillum brasiliense*. A distribuição ecológica de *Azospirillum spp.* é extremamente vasta, sendo considerada uma bactéria encontrada em diversos ambientes e em espécies de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas. As pesquisas revelaram que esse ser vivo procarionte contribuiu com a redução do nitrato a nitrito, o qual é acumulado no meio semi-sólido ou sob condições anaeróbicas, e também, do nitrito a óxido nitroso e dinitrogênio (Döbereiner & Pedrosa, 1987; Döbereiner, 1991).

O uso de organismos fixadores de nitrogênio da atmosfera (N_2) é uma técnica bastante promissora em gramíneas, principalmente na cultura do milho que, para cada tonelada de grão produzido, são extraídos aproximadamente 20 Kg de N (COELHO; FRANÇA, 1995). Ainda, com a intensão de diminuir o uso de fertilizantes nitrogenados minerais podendo contribuir para uma redução de custos na produção, preservando os recursos naturais.

Estudos indicam o sucesso da utilização de *Azospirillum spp.* em milho podem ser encontrados na literatura (HUNGRIA et al., 2010; ARAÚJO et al., 2014;), no entanto, algumas incoerências são apontadas, onde a utilização do *Azospirillum spp.* não altera o potencial produtivo da cultura (MELLO, 2012; MORAIS, 2014; BASI, 2013), que possivelmente podem estar associadas as características de cultivares (QUADROS et al., 2014), especificidade, seleção de estirpes (HUNGRIA65, 2011), ou até mesmo defensivos aplicados no tratamento de sementes (FUKAMI et al., 2016).

De acordo com Hungria et al. (2010), a inoculação com *Azospirillum spp.* promoveu ganhos em produtividade na ordem de 24 a 30%, dependendo da estirpe utilizada. Estudos de Portugal et al. (2016) evidenciam que na presença do inoculante via pulverização foliar, a produtividade de grãos de milho aumentou em 780 Kg ha⁻¹. Lana et al. (2012) observaram a média de duas safras, ganhos de 11% na produtividade de grãos. Esse aumento na produtividade final de grãos está, possivelmente, associado aos efeitos benéficos que as bactérias promotoras de crescimento provocam durante as distintas fases de desenvolvimento da cultura, necessitando, portanto, de estudos que investiguem o crescimento inicial da planta, além de possíveis diferenças de comportamento entre híbridos de milho.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inoculação com *Azospirillum brasilense* no desenvolvimento inicial de plantas de três híbridos de milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, pertencente a Faculdades Integradas de Ourinhos, no município de Ourinhos (SP). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2, com sete repetições. Os tratamentos foram 3 híbridos de milho (DKB 290, SYN 7G17 e MG 30A37 PW), com ou sem inoculação por *Azospirillum brasilense*.

Anteriormente à semeadura, preparou-se o substrato na seguinte proporção: 0,6 litros de torta de filtro, 1,2 litros de areia grossa e 1,2 litros de solo. As substâncias foram homogeneizadas por completo, acondicionadas em vasos com capacidade de 3 litros, e posteriormente foram levadas à autoclave, mantendo por 15 minutos em temperatura de 121°C, com a finalidade de esterilizar o substrato e o recipiente.

O experimento foi instalado na casa de vegetação, sendo cada unidade experimental representada por um vaso. As sementes de cada híbrido de milho, referentes aos devidos tratamentos, foram inoculadas com a dose de 0,1 L por 60.000 sementes e semeadas à uma profundidade de 3 cm. Em cada vaso foram semeadas 3 sementes e, aos 15-20 dias, foi efetuado o desbaste, deixando apenas uma planta por vaso. Durante a condução do experimento, a umidade do substrato foi mantida, sem que houvesse limitações hídricas para o desenvolvimento da planta.

Aos 36 dias após a semeadura (DAS) as plantas foram retiradas dos vasos, lavadas em água corrente e determinados os seguintes parâmetros: a) diâmetro de colmo: com auxílio de um paquímetro digital, na base da planta; b) comprimento de raiz: após lavagem a raiz foi estendida ao máximo, medindo-se da base até a ponta da maior raiz; c) matéria fresca (MF) da parte aérea: toda a parte aérea de cada planta, a partir da superfície do solo, foi pesada em balança de precisão; d) MF de raiz: foi pesou-se toda a raiz da planta; e) MF total de planta: com os valores de peso da parte aérea e raiz; f) matéria seca (MS) de raiz: pesou-se toda a raiz da planta após ser levada para estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas; g) MS de parte aérea: após a pesagem da matéria fresca, o mesmo material foi levado para estufa para posterior secagem; h) MS total de planta: foi obtido a partir da soma dos valores de MS de raiz e de parte aérea.

Para análise estatística, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. As médias referentes aos tratamentos com ou sem inoculação foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o diâmetro de colmo, o híbrido DKB 290 apresentou-se superior em relação aos demais, independentemente se foi com ou sem inoculação (Tabela 1). Certamente a superioridade desse híbrido deve-se a fatores genéticos, uma vez que a inoculação não mostrou diferença na média dos três materiais. Nunes et al. (2014), estudando 15 híbridos de milho, observou superioridade em materiais da DEKALB (DKB). Morais (2014) não observou diferença no diâmetro de colmo avaliando dois híbridos de milho com e sem inoculação.

Referente ao comprimento de raiz, não foi observado diferenças entre os híbridos, tampouco quando estes foram ou não inoculados (Tabela 1). Tais resultados indicam que não há interferência nessa variável quando as sementes são inoculadas. Kuss et al. (2008) observaram resultados semelhantes na cultura do arroz, onde, em três cultivares, as bactérias *Azospirillum brasilense* e *A. lipoferum* não afetaram o comprimento da raiz aos 26 DAS.

Em relação a MF da raiz, parte aérea e da planta inteira, o híbrido DKB 290 foi superior em relação aos demais independente se recebeu ou não o inóculo (Tabela 2). No entanto, a inoculação não afetou o comportamento dos híbridos em nenhum dos parâmetros avaliados, com exceção do SYN 7G17 que aumentou cerca de 30% na MF da parte aérea com a inoculação. Apesar disso, na média dos três híbridos, não foi observado diferenças significativas, indicando que a MF das plantas de milho não sofre grandes alterações no crescimento inicial até os 36 DAS quando a semente é tratada com inoculante contendo *Azospirillum brasilense*.

O material DKB 290 apresentou superioridade em relação aos outros materiais no conteúdo médio de MS na raiz, parte aérea e da planta inteira em 88, 63 e 68%, respectivamente (Figura 1). No entanto, não há diferença nos três materiais entre com e sem inoculação. Esses resultados apontam que a inoculação das sementes de milho com bactérias fixadoras de N não interfere no desenvolvimento inicial das plantas. Resultados semelhantes foram observados por Repke (2013) avaliando o conteúdo de MS no final do ciclo do milho. Cavaletti et al. (2000) ressaltam que o efeito de *Azospirillum* spp. pode ser influenciado por

condições regionais de clima, culturas, cultivares, devendo haver, previamente, estudos selecionando estirpes mais adaptadas às condições locais.

Tabela 1. Diâmetro de colmo (mm) e comprimento de raiz (cm) de híbridos de milho *com* e *sem* inoculação por *Azospirillum brasilense*. Ourinhos, SP, 2016.

Híbrido	Diâmetro de colmo (mm)		Comprimento de raiz (cm)	
	Inoculação			
	<i>Com</i>	<i>Sem</i>	<i>Com</i>	<i>Sem</i>
DKB 290	8,91 a B	12,23 a A	59,43 a A	53,57 a A
SYN 7G17	7,36 a b A	6,73 b A	55,00 a A	53,43 a A
MG 30A37 PW	5,96 b A	6,13 b A	63,00 a A	56,86 a A
Média	7,41 A	8,36 A	59,14 A	54,62 A
CV (%)	26,56		14,93	

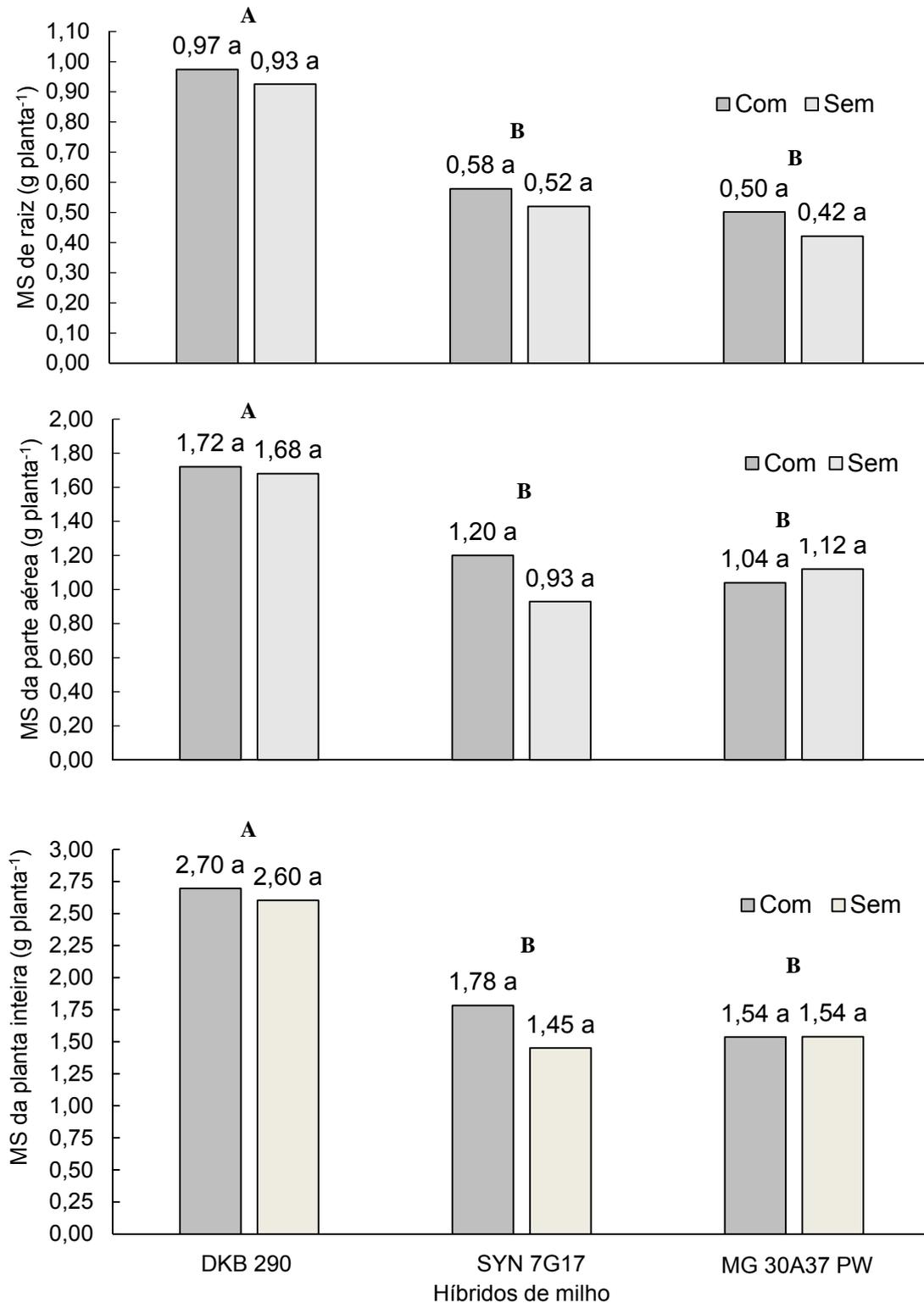
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Matéria fresca (MF) da raiz, parte aérea e da planta inteira de híbridos de milho *com* e *sem* inoculação por *Azospirillum brasilense*. Ourinhos, SP, 2016.

Híbrido	MF da raiz (gramas)		MF da parte aérea (gramas)		MF da planta inteira (gramas)	
	Inoculação					
	<i>Com</i>	<i>Sem</i>	<i>Com</i>	<i>Sem</i>	<i>Com</i>	<i>Sem</i>
DKB 290	14,15 a A	12,99 a A	19,11 a A	17,48 a A	33,26 a A	30,46 a A
SYN 7G17	8,15 b A	7,17 b A	14,91 b A	11,44 b B	23,06 b A	18,61 b A
MG 30A37 PW	6,69 b A	6,36 b A	10,17 c A	10,86 b A	16,86 c A	17,22 b A
Média	9,67 A	8,84 A	14,73 A	13,26 A	24,40 A	22,10 A
CV (%)	21,8		20,11		18,83	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Figura 1 – Matéria seca (MS) de raiz, parte aérea e da planta inteira de híbridos de milho com e sem inoculação por *Azospirillum brasilense*. Letras maiúsculas iguais não diferem na média entre os híbridos de milho e letras minúsculas nas médias de *com* ou *sem* inoculação em cada híbrido pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)



CONCLUSÕES

A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense*, nas condições desse estudo, não influenciou o crescimento inicial das plantas.

O híbrido DKB 290 mostrou-se superior aos demais no crescimento inicial.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R. M.; ARAÚJO, A. S. F.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta do milho verde à inoculação com *Azospirillum brasilense* e níveis de nitrogênio. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1556–1560, 2014.

BASI, S. **Associação de *Azospirillum brasilense* e de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. 2013. 50p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal), Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava. 2013.

DÖBEREINER, J. The Genus *Azospirillum* and *Herbaspirillum*. In: BALOWS, A.; TRIPPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIDER, K.-H. eds. **The prokaryotes**. 2 ed. New York: Springer-Verlag, 1991, p. 2236-2253.

DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F. O. Nitrogen-fixing bacteria in non-leguminous crop plants. **Science Tech**, Madison: Springer-Verlag, 1987. 155p.

CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. S.; HELMICH, J. J.; HELMICH, P. R.; OST, C. F. Produtividade do milho em resposta a aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum spp.*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 129-132, 2000.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de. Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação. 2 ed. aum. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 71, p. 1-9, set. 1995. Arquivo do Agrônomo, Piracicaba, n. 2, set. 1995. Encarte.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, v. 6, n. 3, 2016.

HUNGRIA, M. **Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. 2 ed. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; SOUZA, E.M.; PEDROSA, F.O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 413-425, 2010.

KUSS, A. V.; KUSS, V. V.; HOLTZ, E. K.; LOVATO, T. Inoculação de bactérias diazotróficas e desenvolvimento de plântulas de arroz irrigado em solo e câmara de crescimento. **Revista da FZVA**, v. 15, n. 1, p. 90-102, 2008.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARTINI, D.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, v. 59, n. 3, p. 399-405, 2012.

MELLO, N. **Inoculação de *Azospirillum brasilense* nas culturas do milho e trigo**. 2012. 90p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal), Universidade de Passo Fundo, Faculdade de Agronomia e medicina Veterinária, Passo Fundo. 2012.

MORAIS, G. P. **Comportamento de híbridos de milho adubados com nitrogênio e inoculados com diazotróficos associativos**. 2014. 64p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Solos e Nutrição de Plantas), Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Agrárias, Fortaleza. 2014.

NUNES, J. G. S.; PRADO, E. P.; GAZOLA, B.; PIMENTEL JUNIOR, A.; SILVA NUNES, J. G. S. Aspectos agronômicos e desempenho de diferentes híbridos de milho, avaliados na região de Ourinhos, SP. In: XII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., 2014, Ourinhos. **Resumos...** Ourinhos: FIO, 2014. 1 CD.

OECD/FAO - *OECD-FAO Agricultural Outlook 2015 (França, Paris)*. **OECD Publishing**, 2015. Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-2015_agr_outlook-2015-en> Acesso em: 28 ag. 2016.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; PERES, A. R.; GITTI, D. C.; RODRIGUES, R. A. F.; GARCIA, N. F. S.; GARÉ, L. M. *Azospirillum brasilense* promotes increment in corn production. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 19, p. 1688-1698, 2016.

QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F.; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho agronômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

REPKE, R. A. **Eficiência da *Azospirillum brasilense* na fixação de nitrogênio em milho**. 2013. 57p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu. 2013.