

Avaliação de plântulas de milho em solução nutritiva sob a ação de bioestimulantes à base de microrganismos

Sylvia Morais de Sousa⁽¹⁾; Christiane Abreu de Oliveira⁽²⁾; Eliane Aparecida Gomes⁽²⁾; Ubiraci Gomes de Paula Lana⁽³⁾; Natalia Gonçalves Santos⁽⁴⁾; Lucimara Batista Oliveira⁽⁴⁾; Fernanda de Cássia Batista⁽⁵⁾.

⁽¹⁾Pesquisadora; Embrapa Milho e Sorgo; Sete Lagoas, Minas Gerais; sylvia.sousa@embrapa.br. ⁽²⁾Pesquisadora; Embrapa Milho e Sorgo; ⁽³⁾Analista; Embrapa Milho e Sorgo; ⁽⁴⁾Estudante; Escola Técnica Municipal de Sete Lagoas; ⁽⁵⁾Estudante, Centro Universitário de Sete Lagoas.

RESUMO: Os bioestimulantes compostos por microrganismos tem grande potencial, uma vez que promovem o crescimento das plantas com menor impacto ambiental. Eles podem ser aplicados nas plantas ou na rizosfera, a fim de melhorar a eficiência de uso de nutrientes, a tolerância a estresses abióticos e a produtividade. O objetivo desse trabalho foi avaliar em plântulas de milho o efeito de três cepas de microrganismos promotores de crescimento na morfologia radicular. As plântulas de milho foram crescidas em solução nutritiva Hoagland meia força (pH 5,65) pelo sistema de *floating* sob um período de aclimatação de sete dias. Após o período de aclimatação em solução as raízes foram incubadas com os microrganismos (Endofítica B2, Rizosférica *Bacillus* B1 e *Azospirillum* E1 e controle sem inoculação) por 6 h e depois recolocadas em solução nutritiva por sete dias. As raízes foram fotografadas e as características radiculares foram quantificadas com RootReader2D e WhinRhizo. O tratamento com a cepa Endofítica B2 levou à redução do comprimento, área radicular total e área de superfície de raízes superfina. Os tratamentos com as cepas Rizosférica *Bacillus* B1 e *Azospirillum* E1 reduziram significativamente a área de superfície de raízes grossas e o peso seco da raiz. O tratamento com *Azospirillum* também promoveu um aumento significativo de raízes finas e do peso seco da parte aérea, enquanto o tratamento com *Bacillus* apresentou apenas uma tendência de aumento destes mesmos parâmetros. Os resultados indicam que o inóculo de *Azospirillum* E1 altera a morfologia radicular e tem potencial de uso como promotor de crescimento em milho.

Termos de indexação: Promotores de crescimento, solução nutritiva, raiz.

INTRODUÇÃO

Uma das características mais importantes para a produção agrícola é a conversão de recursos do solo em maior produtividade de forma eficiente. Embora fundamentais à produtividade, os fertilizantes químicos apresentam custo elevado, sendo a maioria importados e de baixa eficiência de utilização pelas plantas. A substituição de pelo menos parte destes insumos químicos consumidos na produção agrícola por nutrientes supridos via fontes biológicas torna-se altamente desejável dentro dos preceitos de uma agricultura sustentável nas dimensões econômicas, sociais e ecológicas que minimizem a dependência dos insumos importados. Neste cenário, microrganismos promotores do crescimento de plantas são indispensáveis para o planejamento de sistemas de manejo que visem à otimização da produtividade agrícola.

Os bioestimulantes utilizados atualmente são compostos por diversas substâncias e/ou microrganismos que podem ser aplicados nas plantas ou na rizosfera para estimular os processos naturais de crescimento e desenvolvimento ou aumentar a aquisição de nutrientes, tolerância a estresses abióticos ou a produtividade das plantas (Calvo et al., 2014). Os bioestimulantes microbianos normalmente são compostos por uma ou duas linhagens crescidas separadamente e isoladas do meio de cultura, concentradas e formuladas com algum carreador (Calvo et al., 2014). Alguns inóculos microbianos podem atuar como promotores de crescimento, alterando a arquitetura radicular e promovendo o desenvolvimento da planta através da produção ou degradação dos principais hormônios vegetais, auxinas (IAA), citoquininas, giberelinas (GA) e etileno (Idris et al., 2007; Bhattacharyya & Jha 2012; Dodd et al., 2010).

Várias espécies de *Azospirillum* produzem diferentes giberelinas e auxinas que são responsáveis pelo aumento do crescimento vegetal após a inoculação (Piccoli et al., 1997). Além disso,

diversos gêneros de bactérias, incluindo *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* (Bastián et al., 1998) e *Bacillus* spp. (Gutierrez-Mañero et al., 2001) produzem substâncias do tipo giberelina (GA). O exato mecanismo de como ocorre à promoção do crescimento por GA permanece desconhecido. Outros microrganismos promovem a produção de IAA que altera o desenvolvimento e a morfologia radicular (Aloni et al., 2006). O objetivo desse trabalho foi avaliar em plântulas de milho o efeito de três cepas de microrganismos promotores de crescimento na morfologia radicular.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na Câmara de Crescimento da Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas – Minas Gerais. Foi utilizado o genótipo de milho L521236/CMSM036 do programa de melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo. Foram utilizadas três cepas, Endofítica B2, Rizosférica *Bacillus* B1 e *Azospirillum* E1 e um controle não inoculado.

Os microrganismos foram crescidos em caldo nutritivo, por três dias, a 28 °C, sob agitação. Após o período de incubação, as culturas foram centrifugadas por 10 minutos, a 6000 RPM. As suspensões bacterianas foram ajustadas à absorbância igual ou superior a 1, em comprimento de onda de 550 nm, com a finalidade de obter-se aproximadamente 10^9 células mL⁻¹.

As sementes de milho foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 0,5% por cinco minutos, lavadas e embebidas durante quatro horas em água deionizada e germinadas em papel de germinação em câmara de crescimento. Após a germinação das sementes por quatro dias, plântulas uniformes foram transplantadas para um sistema composto por bandejas com oito litros de solução nutritiva Hoagland meia força pH 5,65 (Liu et al., 1998) e mantidas em aclimação por sete dias. Após a aclimação as plântulas foram deixadas por 6h a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) na suspensão bacteriana. As plântulas com os inóculos foram agitadas manualmente em intervalos frequentes para facilitar o contato da bactéria com as raízes. Após o período de incubação, o excesso de inóculo foi retirado e as plântulas foram colocadas em solução nutritiva Hoagland meia força pH 5,65. As plantas controles foram incubadas em solução salina. A solução nutritiva foi trocada a cada três dias e as plantas foram mantidas em câmara de crescimento sob condições controladas por sete dias.

O sistema radicular foi separado da parte aérea

e foi fotografado com uma câmera digital (Nikon D300S SLR). As imagens obtidas foram analisadas com o auxílio dos softwares RootReader2D e WinRhizo v. 4.0 (Régent Systems, Quebec, Canadá), sendo quantificadas as características de morfologia radicular e o peso seco total (de Sousa et al., 2012).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições com cinco plantas cada. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo programa computacional SISVAR versão 5.4 (Ferreira, 2011) e as médias, comparadas pelo teste LSD ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou que houve diferença significativa para as características área de superfície finas (diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm) e grossas (diâmetro maior do que 2,0 mm) e peso seco da raiz e da parte aérea (**Tabela 1**). O coeficiente de variação foi de baixo a médio para todas as características analisadas no experimento com os microrganismos (**Tabela 1**), indicando confiabilidade dos dados.

O tratamento com a cepa Endofítica B2 levou à redução do comprimento, área radicular total e área de superfície de raízes superfinais (diâmetro entre 0 e 1 mm) (**Figura 1**). Os tratamentos com as cepas Rizosférica *Bacillus* B1 e *Azospirillum* E1 reduziram significativamente a área de superfície de raízes grossas (diâmetro maior do que 2 mm) e o peso seco da raiz (**Figura 1**). O tratamento com *Azospirillum* levou a um aumento significativo de raízes finas (diâmetro entre 1 e 2 mm) e do peso seco da parte aérea, enquanto que o tratamento com Rizosférica *Bacillus* B1 apresentou uma tendência de aumento (**Figura 1**). O aumento de raízes finas e redução de raízes grossas tende a aumentar a aquisição de nutrientes, especialmente o fósforo (de Sousa et al., 2012). O aumento da aquisição de macro e micronutrientes por plantas inoculadas com microrganismos promotores de crescimento, através do aumento da superfície radicular já foi relatado em diversos trabalhos (Calvo et al., 2014), mas o seu mecanismo ainda não foi completamente elucidado. Um trabalho feito com inóculo de *Azospirillum* em arroz em solução nutritiva mostrou que a superfície radicular total não foi afetada, mas que houve aumento da parte aérea (Murty & Ladha, 1988), de forma semelhante ao que foi observado em nosso trabalho.

Os resultados indicam que o inóculo de *Azospirillum* altera a morfologia radicular e tem potencial de uso como promotor de crescimento em milho. Um estudo mais detalhado será necessário

para elucidar o mecanismo associado ao aumento do desenvolvimento da planta inoculada.

CONCLUSÕES

O inóculo microbiano com *Azospirillum* E1 induziu o aumento da superfície de raízes entre 1-2 mm, a redução de raízes maior do que 2 mm e o aumento do peso seco da parte aérea de plântulas de milho crescidas em solução nutritiva, tendo potencial como bioestimulante.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Gislene Rodrigues Braga Cristeli pela ajuda na condução dos experimentos e à Embrapa, CNPq e Fapemig pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

ALONI, R., ALONI, E., LANGHANS, M., ULRICH, C. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. **Ann. Bot.**, v. 97, p. 883-893, 2006.

BASTIÁN, F., COHEN, A., PICCOLI, P. *et al.* Production of indole-3-acetic acid and gibberellins A1 and A3 by *Acetobacter diazotrophicus* and *Herbaspirillum seropedicae* in chemically-defined culture media. **Plant Growth Regul.**, v. 24, p. 7-11, 1998.

BHATTACHARYYA, P.N., JHA, D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World J Microbiol. Biotechnol.**, v. 28, p. 1327-1350, 2012.

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, The Hague, v. 383, n. 1/2, p. 3-41, 2014.

DE SOUSA, S. M. de; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; OLIVEIRA, A. C. de; VASCONCELOS, M. J. V. de; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARAES, C. T.; MAGALHAES, J. V. A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 39, n. 11, p. 925-935, 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GUTIERREZ-MAÑERO, F.J., RAMOS-SOLANO, B., PROBENZA, A.N., MEHOUACHI, J., TADEO, F.R., TALON, M. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilis* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. **Physiol. Plant**, v. 111, p. 206-211, 2001.

IDRISS, E.E., MAKAREWICZ, O., FAROUK, A. *et al.* Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. **Microbiology**, v. 148, p. 2097-2109, 2002.

LIU, C.; MUCHHAL, U. S.; UTHAPPA, M.; KONONOWICZ, A. K.; RAGHOTHAMA, K. G. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissue by phosphorus. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 116, n. 1, p. 91-99, 1998.

MURTY M.G., LADHA, J.K. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. **Plant and Soil**, v. 109, p. 281-285, 1988

Tabela 1. Resumo das análises de variância para características radiculares e peso seco de plântulas de milho avaliadas sob efeito dos inóculos microbianos Endofítica B2, Rizosférica *Bacillus* B1 e *Azospirillum* E1 após 7 dias de tratamento. Comprimento radicular total (CTR) (cm), área de superfície radicular total (AST) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 0 e 1,0 mm (AS1) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre 1,0 e 2,0 mm (AS2) (cm²), área de superfície de raízes com diâmetro entre (AS3) (cm²), peso seco da raiz (PSR) (g), peso seco da parte aérea (PSPA) (g) e peso seco total (PST) (g).

FV	GL	Quadrado Médio							
		CRT	AST	AS1	AS2	AS3	PSR	PSPA	PST
Tratamento (T)	3	7957,48	900,67	173,14	740,70*	172,04*	0,001*	0,003*	0,001
erro	8	2699,77	276,19	54,89	56,09	9,89	0,000	0,001	0,001
Total corrigido	11								
CV %		17,08	12,68	27,58	13,00	8,54	10,95	17,37	9,81
Média Geral		304,17	131,05	26,87	57,63	36,85	0,13	0,14	0,26

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

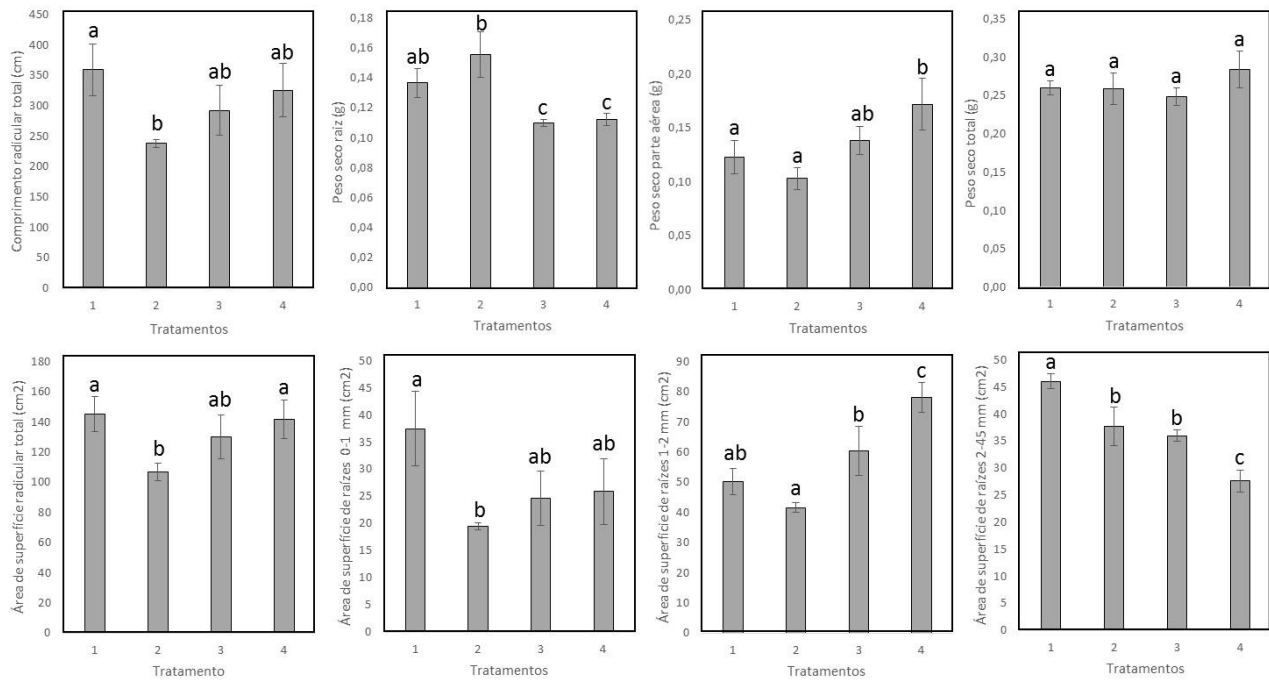


Figura 1. Características radiculares e peso seco total de plântulas de milho após sete dias de tratamento. 1- Controle negativo, 2- Endofítica B2, 3- Rizosférica *Bacillus* B1 e 4- *Azospirillum* E1. As barras com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).