

Características biométricas e acúmulo de nitrogênio em plantas de milho inoculadas com *Azospirillum brasilense* sob déficit hídrico em casa de vegetação.

Antonio Eduardo Coelho⁽¹⁾; Claudia Tochetto⁽²⁾; Luiz Henrique Michelon⁽³⁾; Thaís Lemos Turek⁽³⁾; Renata Franciéli Moraes⁽⁴⁾; Samuel Luiz Fioreze⁽⁵⁾.

⁽¹⁾ Discente do Programa de pós-graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, coelhoagro7@gmail.com; ⁽²⁾ Discente do programa de pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná- Campus Marechal Cândido Rondon; ⁽³⁾ Discente do curso de Agronomia da Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Curitibanos; ⁽⁴⁾ Discente do programa de pós-graduação em produção vegetal da Universidade Federal do Paraná; ⁽⁵⁾ Professor adjunto do curso de Agronomia da Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Curitibanos.

RESUMO: A inoculação de sementes de milho com *Azospirillum brasilense* vem sendo estudada e recomendada para gramíneas no Brasil, para fornecimento de N. Contudo, a real eficiência e atuação da interação da bactéria ainda não está clara, é provável que a inoculação possibilite as plantas de milho maior tolerância a possíveis estresses de ordem biótica e abiótica. O objetivo do trabalho foi investigar efeitos da inoculação com bactérias *A. brasilense* sobre a capacidade de plantas de milho em tolerar o déficit hídrico. Foi conduzido um experimento em vasos, em casa de vegetação. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 2 x 2, com quatro repetições. Os fatores foram compostos pela indução ou não do déficit hídrico, em dois genótipos de milho (P30F53 e Catarina), submetidos ou não à inoculação com *A. brasilense*, totalizando 32 unidades experimentais. Foram determinados o volume radicular, a massa de matéria seca de raízes e parte aérea, os teores e acúmulo de nitrogênio em raízes e parte aérea. A inoculação com *A. brasilense* incrementa o crescimento do sistema radicular de plantas de milho, porém não afetou o acúmulo de nitrogênio as plantas, tampouco apresenta interação com o déficit hídrico.

Termos de indexação: bactérias diazotróficas, Zea mays, fixação biológica de nitrogênio.

INTRODUÇÃO

O nitrogênio é o macro nutriente mais exigido por gramíneas, sendo o nutriente que mais afeta a produtividade da cultura do milho (Okumura et al., 2011). Segundo Machado et al. (1998), a adubação nitrogenada representa 75% dos custos com adubação e 40% dos custos totais de produção da cultura. A possibilidade de utilização de bactérias associativas que possibilitem a fixação biológica de nitrogênio (FBN), tem despertado a atenção de produtores e pesquisadores no Brasil. Estima-se, que a fixação associativa por *A. brasilense* contribui com 25 a 50 kg de nitrogênio por hectare por ano em gramíneas (Hungria et al., 2007; Moreira et al., 2010; Huergo et al., 2008). Contudo, a real eficiência da interação da bactéria ainda não foi comprovada, principalmente no que tange à FBN (Didonet et al. 1996; Didonet et al. 2000; Campos et al. 1999; Gitti et al. 2012).

Hormônios vegetais como auxinas, citocininas e giberelinas foram detectados no sobrenadante do cultivo de bactérias do gênero *Azospirillum*, especialmente *A. brasilense* (Bottini et al., 1988; Reis Junior et al., 2004; Radwan et al., 2005). Considerando que o *A. brasilense*, produz hormônios vegetais que promovem um melhor desenvolvimento da cultura, não fica claro se os benefícios resultantes da inoculação de sementes com *A. brasilense* em trabalhos a campo (Cavallet et al., 2000; Perin et al., 2003; Reis Junior et al. 2008; Hungria, 2010; Dartora et al., 2013; De Quadros et al., 2014; Rodrigues et al., 2014) seja oriundos do aumento da superfície radicular que leva a planta a absorver melhor todos os nutrientes, ou da FBN.

De Quadros et al. (2014) observaram que as respostas a inoculação com *A. brasilense*, dependem da cultivar ou híbrido utilizado. Outro fato que chama atenção é que a inoculação com *A. brasilense* em trabalhos desenvolvidos com baixo nível produtivo com produtividades inferiores a 5 t/ha (Hungria, et al. 2010) possuem boas respostas, o mesmo não ocorre em trabalhos desenvolvidos com alto nível tecnológico com produtividades superiores a 10 t/ha (Sangoi et al, 2015), o que levanta a hipótese que em plantas que estão sob algum estresse a inoculação tende a minimizar o fator estressante.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em abril de 2014, em cultivo protegido na Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Curitibaanos, localizada nas coordenadas geográficas 27°17'12.2" S, 50°31'96.6"O com 1010 metros de altitude.

O experimento foi implantado em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 2 x 2, com quatro repetições. Os fatores foram compostos pela indução ou não de déficit hídrico, da inoculação ou não de sementes com *A. brasilense* e de dois genótipos de milho (P30F53 e a variedade Catarina) totalizando 32 vasos. Cada unidade experimental foi composta por um vaso com 3,3 litros, preenchido com areia lavada. O substrato foi adubado com 3,8 g vaso⁻¹ de superfosfato simples, 1,0 g vaso⁻¹ de cloreto de potássio e 1,5 g vaso⁻¹ de calcário dolomítico. Para a inoculação utilizou-se o inoculante comercial Masterfix Gramíneas®, contendo as estirpes Abv5 e Abv6 da bactéria, na concentração de 100 milhões de células por mL.

Após a inoculação, foram semeadas três sementes por vaso, mantendo-se apenas uma planta após o estágio V2 (Ritchie et al. 1993). A irrigação foi realizada de forma manual para todos os tratamentos até o estágio V4 de desenvolvimento das plantas. Neste estágio induziu-se o déficit hídrico nos tratamentos descritos, através da suspensão da rega por um período de 10 dias. Ao final do período de déficit hídrico, as plantas foram coletadas para avaliação. Foram determinados o volume radicular e a massa de matéria seca de raízes e parte aérea, após secagem em estufa de circulação forçada de ar. Em seguida, determinou-se os teores e o acúmulo de nitrogênio em raízes e parte aérea de plantas, utilizando-se o método Semi-micro Kjeldahl (Tedesco et al., 1995).

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p < 0,05$). E as médias foram contrastadas pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros biométricos (Quadro 1) em plantas de milho foram influenciados pelos ambientes testados. A redução da expansão celular e consequente crescimento é um dos primeiros sinais encontrados em plantas sob déficit hídrico (Taiz & Zeiger, 2010), em nosso estudo a supressão da irrigação por 10 dias, causou uma redução de 44,81% na massa de matéria seca total em comparação com a testemunha. Dados semelhantes aos encontrados por Bonfim-Silva et al, 2011. Com uma redução mais expressiva do volume radicular (51,94%) e massa de matéria seca de raiz (52,33%) do que matéria seca de parte aérea (41,06%), ao contrario do que se esperava não foi encontrada interação significativa entre o regime hídrico e a inoculação com *A. brasilense*, estudos de Grieder et al., (2014) demonstram que um maior crescimento radicular contribui para melhorar o desempenho de plantas de milho sob déficit hídrico, porém como no presente estudo se trabalhou com um volume de solo limitado o maior crescimento radicular não melhorou o desempenho sob déficit hídrico. A Cultivar Catarina demonstrou maior crescimento vegetativo que o Híbrido simples P30F53. Em todos os parâmetros biométricos avaliados não foi encontrada interação entre variedade e inoculação. Por mais que a inoculação com *A. brasilense* tenha se demonstrado superior numericamente a testemunha em todas as avaliações biométricas, foi encontrado diferença significativa somente em massa de matéria seca de raiz, com um incremento de 16% de massa.

Quadro 1: Parâmetros biométricos em plantas de milho, inoculadas com *A. Brasilense* e submetidas a déficit hídrico em cultivo protegido. Curitiba (SC), 2014.

	V R (ml)	MSR (g)	MSPA (g)	MST (g)
Ambiente				
Controle	90,00 a	11,35 a	22,84 a	34,19 a
Seca	43,25 b	5,41 b	13,46 b	18,87 b
INOCULAÇÃO				
<i>A. brasilense</i>	67,25 a	9,12 a	18,18 a	27,29 a
Testemunha	66,0 a	7,64 b	18,13 a	25,77 a
VARIEDADE				
P30F53	57,44 b	6,56 b	15,67 b	22,22 b
Catarina	75,81 a	10,20 a	20,64 a	30,84 a
D.M.S (5%)	7,60	1,33	2,86	2,41
Média geral	66,63	8,38	18,15	26,53
C.V. (%)	15,31	21,58	21,45	12,35

VR: Volume radicular; MSR: Massa de matéria seca de raízes; MSPA: Massa de matéria seca de parte aérea; MST: Massa de matéria seca total; Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si na coluna pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

Foi possível observar um maior acúmulo de nitrogênio nas raízes dos tratamentos com regime hídrico adequado (Quadro 2), no que se refere a concentração de nitrogênio em tecido vegetal, nos tratamentos que se teve um menor crescimento o nitrogênio se apresenta em maior concentração, porém é um possível efeito de diluição. De forma geral as cultivares tiveram um comportamento semelhante, com um pequeno incremento no acúmulo de nitrogênio em raízes na cultivar Catarina que demonstrou ter uma maior facilidade de absorver nitrogênio em um substrato pobre de N. Esperava-se que com a utilização de um substrato pobre em nitrogênio e um volume limitado a ser explorado, que com a FBN, as plantas inoculadas com *A. brasilense* apresentassem um incremento na concentração de nitrogênio em tecido vegetal, porém essa resposta não foi encontrada. O que levanta a hipótese de que não houve fixação biológica de nitrogênio pelas bactérias estudadas no presente trabalho.

Quadro 2: Teores de nitrogênio em plantas de milho, inoculadas com *A. Brasilense* e submetidas a déficit hídrico em cultivo protegido. Curitiba (SC), 2014.

	TNR (%)	NR (g)	TNPA (%)	NPA (g)
Ambiente				
Controle	0,87 b	0,09 a	1,36 b	0,32 a
Seca	1,36 a	0,07 b	2,05 a	0,28 a
INOCULAÇÃO				
<i>A. brasilense</i>	1,09 a	0,08 a	1,74 a	0,30 a
Testemunha	1,14 a	0,08 a	1,66 a	0,30 a
VARIEDADE				
P30F53	1,21 a	0,07 a	1,81 a	0,28 a
Catarina	1,02 a	0,09 b	1,60 a	0,32 a
D.M.S (5%)	0,19	0,01	0,25	0,07
Média geral	1,11	0,08	1,70	0,30
C.V. (%)	23,09	20,16	19,91	31,71

TNR: Teor de nitrogênio em raízes; NR: Acúmulo de nitrogênio em raízes; TNPA: Teor de nitrogênio em parte aérea; NPA: Acúmulo de nitrogênio em parte aérea; Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si na coluna pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

Tien et al., (1979) afirmou que bactérias do gênero *Azospirillum*, produzem substâncias que promover o crescimento de plantas. Hormônios vegetais como auxinas, citocininas e giberelinas foram detectados no sobrenadante do cultivo de bactérias do gênero *Azospirillum*, especialmente *A. brasilense* (Bottini et al., 1988; Reis Junior et al., 2004; Radwan et al., 2005). Considerando que o *A. brasilense*, produz hormônios vegetais que promovem um maior desenvolvimento do sistema radicular, o que acarreta em uma maior capacidade de absorção de água e nutrientes, e as bactérias como evidenciado nesse estudo não apresenta alteração na disponibilidade de nitrogênio é provável que os benefícios resultantes da inoculação de sementes com *A. brasilense* em trabalhos a campo (Hunglia, 2011) seja oriundos do aumento da superfície radicular que leva a planta a absorver melhor todos os nutrientes, e não da FBN.

CONCLUSÕES

A inoculação com *A. brasilense* incrementa o crescimento do sistema radicular de plantas de milho.

O *A. brasilense* não afetar o acúmulo de nitrogênio as plantas.

A imposição do déficit hídrico em plantas de milho, afetou drasticamente o crescimento

vegetativo não apresentando interação entre déficit hídrico e inoculação com *A. brasilense*.

REFERÊNCIAS

- BONFIM-SILVA, E. M., DA SILVA, T. J. A., CABRAL, C. E. A., KROTH, B. E., REZENDE, D. Desenvolvimento inicial de gramíneas submetidas ao estresse hídrico. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 2, p. 180-186, 2011.
- BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PHARIS, R. P. Identification of Gibberellins A1, A3, and Iso-A3 in Cultures of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiol.** V. 90, P. 45-47, 1989.
- CAMPOS, B. C.; THEISEN, S. ; GNATTA, V. Inoculante Graminante nas culturas de trigo e aveia.. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, p. 401-407, 1999.
- CAVALLET LE, PESSOA ACS, HELMICH JJ, HELMICH PR, OST CF. Produtividade do milho em resposta à aplicação de nitrogênio e inoculação das sementes com *Azospirillum* spp. **R Bras Eng Agric Amb.** V. 4, p 129-132, 2000.
- DARTORA, J.; GUIMARÃES, V. F.; MARINI, D.; SANDER, G. Adubação nitrogenada associada à inoculação com *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 1023-1029, 2013.
- DE QUADROS, P. D.; ROESCH, L. F. W.; SILVA, P. R. F. da; VIEIRA, V. M.; ROEHRS, D. D.; CAMARGO, F. A. O. Desempenho Agrônômico a Campo de Híbridos de Milho Inoculados com *Azospirillum*. **Revista Ceres**, v. 61, p. 209-218, 2014.
- DIDONET, A. D.; Kenner, M.H.; RODRIGUES, O. Acúmulo de nitrogênio e de massa seca em plantas de trigo inoculadas com *Azospirillum brasilense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasil, v. 31, p. 645-651, 1996.
- DIDONET, A. D.; RODRIGUES, O.; Lima, O.S. ; Candaten, A. A. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido a inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasil, v. 35, p. 401-411, 2000.
- GRIEDER, C.; TRACHSEL, S.; HUND, A. Early vertical distribution of roots and its association with drought tolerance in tropical maize. **Plant and Soil**, v.377, p.295-308, 2014.
- GITTI, D. C.; ARF, O.; PORTUGAL, J. R.; CORSINI, D.C.D.C.; RODRIGUES, R. A. F.; KANEKO, F.H. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* em arroz de terras altas no sistema plantio direto. **Bragantia**, São Paulo, SP, v. 71, p. 509-517, 2012
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007 (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- 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.
- HUERGO, L.F.; MONTEIRO, R. A.; BONATTO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, p.17-35, 2008.
- MACHADO, A. T. ; SODEK, L. ; DOBEREINER, Johanna ; REIS, Veronica Massena. Efeito da adubação nitrogenada e da inoculação com bactérias diazotróficas no comportamento bioquímico da cultivar de milho Nitroflint. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 961-970, 1998.
- MOREIRA, F. M. de S.; SILVA, K.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F., Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae** (Online), v. 1, p. 74-99, 2010.
- OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C.; ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v.4, p.226-244, 2011.
- PERIN, L.; SILVA, M. F. ; FERREIRA, J. S.; CANUTO, E. L.; MEDEIROS, A. F. A.; OLIVARES, F. L.; REIS, V. M. Avaliação da capacidade de estabelecimento endofítico de estirpes de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* em milho e arroz. **Agronomia** (UFRRJ), Seropédica-RJ, v. 37, n.2, p. 47-53, 2003.
- RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Aeração e adição de sais na produção de ácido indol acético por bactérias diazotróficas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n.10, p. 997-1004, 2005.
- REIS JUNIOR, F. B.; da SILVA, M. F.; TEIXEIRA, K. R. S.; URQUIAGA, S. ; REIS, V. M. Identificação de Isolados de *Azospirillum amazonense* Associados a *Brachiaria* spp., em Diferentes Épocas e Condições de Cultivo e Produção de Fitormônio pela Bactéria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 103-113, 2004.
- REIS JUNIOR, F. B.; MACHADO, C.T.T.; MACHADO, A.T.; SODEK, L. Inoculação de *Azospirillum amazonense* em dois genótipos de milho sob diferentes regimes de

nitrogênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1139-1146, 2008.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **How a corn plant develops?** Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1993. 26 p. (Special Report, 48).

RODRIGUES, L. F. O. S.; GUIMARÃES, V. F.; SILVA, M. B. da; PINTO JUNIOR, A. S.; Klein, J.; COSTA, A. C. P. R. da. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 31-37, 2014.

SANGOI, L.; Silva, L.M.M. ; Mota, M.R. ; Panison, F. ; SCHMITT, Amaur ; Souza, N.M. ; Giordani, W. ; Schenatto, D.E. . DESEMPENHO AGRONÔMICO DO MILHO EM RAZÃO DO TRATAMENTO DE SEMENTES COM AZOSPIRILLUMSP. E DA APLICAÇÃO DE DOSES DE NITROGÊNIO MINERAL. **Revista Brasileira de Ciência do Solo (Online)**, v. 39, p. 1141-1150, 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E, **Fisiologia vegetal**, 4 ed. Porto Alegre, Artmed, 2010 848 p.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995. 174p. (Boletim Técnico de Solos, 5)

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum*L.). **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.1016-1024, 1979.



XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO

"Milho e Sorgo: inovações,
mercados e segurança alimentar"
