

## **Trocas Gasosas em Milho Inoculado com *Azospirillum brasilense* e Submetido ao Déficit Hídrico**

Luan Fernando O. S. Rodrigues<sup>1</sup>, Mônica Bartira da Silva<sup>1</sup>, Edilaine Della Valentina Gonçalves<sup>1</sup>, Vanessa Daniele Mattiello<sup>1</sup>, Luiz Néri Bertté<sup>1</sup>, Cristiane Cláudia Meinerz<sup>1</sup>, Vandeir Francisco Guimarães<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Discentes do programa de pós-graduação em Agronomia, luanf\_rodrigues@hotmail.com, monica.bartira@hotmail.com, bio.di@hotmail.com, nessamat@yahoo.com, luiz.n.berte@hotmail.com, crismeinerz@hotmail.com; <sup>2</sup>Professor associado do curso de Agronomia universidade Estadual do Oeste do Paraná – Marechal Cândido Rondon, PR, vandeirfg@yahoo.com.

**RESUMO** – No intuito de minimizar os prejuízos causados pelo estresse hídrico na cultura do milho. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de *Azospirillum brasilense* nas trocas gasosas e na produção de matéria seca na cultura do milho submetido ao déficit hídrico na fase inicial de desenvolvimento. O experimento foi conduzido no período de 23 de outubro a 26 de novembro de 2011, na estação de horticultura e cultivo protegido pertencente à Unioeste, campus de Marechal Cândido Rondon-PR. O delineamento adotado foi de blocos casualizados com tratamentos em esquema fatorial 2 x 2 e cinco repetições. Os tratamentos consistiram do sistema de cultivo sem ou com inoculação de *Azospirillum brasilense*, e sem ou com déficit hídrico. As variáveis analisadas foram taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), taxa de transpiração (*E*), condutância estomática (*gs*) e concentração interna de CO<sub>2</sub> na folha (*C<sub>i</sub>*), com um aparelho portátil de medição de trocas gasosas (IRGA). E a partir da relação entre *A* e *E* pôde-se calcular a eficiência do uso da água (*EUA*). Após cinco dias da re-hidratação procedeu-se a retirada das plantas para avaliação da matéria seca total produzida. As trocas gasosas foram influenciadas de formas diferentes de acordo com os tratamentos adotados e não foi possível verificar diferenças significativas entre as matérias secas totais.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., relações hídricas, fixação biológica de nitrogênio.

### **Introdução**

A disponibilidade hídrica é considerada o fator climático de maior efeito sobre a produtividade agrícola (LAWLOR & UPRETY, 1993), sendo fundamental na determinação do rendimento das espécies.

O milho (*Zea mays*) tem seu desenvolvimento diminuído na presença do déficit hídrico (BERGONICI et al., 2001), podendo este fator, dependendo de sua intensidade, levar as células a perder sua turgidez, promovendo assim, alterações nos processos de expansão celular, na fotossíntese e nas trocas gasosas com o ambiente (KRAMER & BOYER, 1995).

O déficit hídrico afeta praticamente todos os aspectos relacionados ao crescimento das culturas: reduz a área foliar (por diminuir o crescimento ou pela senescência acelerada de folhas), diminui a fotossíntese (pela diminuição da área foliar, murchamento e enrolamento de folhas e fechamento de estômatos) e afeta outros processos, como brotação, polinização, absorção de nutrientes e translocação de fotossintetizados (BERGAMASCHI, 1992).

Vários autores vêm estudando o efeito do *Azospirillum brasilense* devido a sua habilidade de converter o nitrogênio da atmosférica em amônia. Essas bactérias promotoras do crescimento vegetal, quando associadas com gramíneas, podem liberar hormônios vegetais na rizosfera favorecendo alguns mecanismos de defesa, como a manutenção da atividade fotossintética em condições adversas, possibilidade de incrementos na absorção da água e minerais, maior tolerância a estresses como salinidade e seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (BASHAN & HOLGUIN, 1997; DOBBELAERE et al., 2001; BASHAN et al., 2004).

Apesar de não trabalharem diretamente com as trocas gasosas na cultura do milho, Dobbelaere et al. (2001) e Bashan et al. (2004) tomam como base que: como aproximadamente 90 % da produção de material orgânico seco das plantas provêm da fotossíntese, logo as maiores produções de matéria seca obtidas por plantas inoculadas em relação às não inoculadas provêm da maior atividade fotossintética influenciada pela inoculação.

Okon & Vanderleyden (1997) ainda salientam que o ganho com *Azospirillum* spp. pode ser atribuído à produção, pela bactéria, de substâncias promotoras de crescimento, entre elas auxinas, giberelinas e citocininas, e não somente a fixação biológica de nitrogênio.

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi o de avaliar o efeito de *Azospirillum brasilense* nas trocas gasosas e na produção de matéria seca na cultura do milho submetido ao déficit hídrico na fase inicial de desenvolvimento.

### **Material e Métodos**

Os experimentos foram conduzidos no período de 23 de outubro a 26 de novembro de 2011, sob cultivo protegido na estação de horticultura e cultivo protegido pertencente ao núcleo de estações experimentais da UNIOESTE- campus de Marechal Cândido Rondon – PR. O município está localizado a uma longitude de 54° 22' W, latitude de 24° 46'S e altitude média de 420 m. O clima da região, de acordo com a classificação de Köppen, é do tipo Cfa, subtropical úmido (mesotérmico), com verões quentes e tendência de concentração das chuvas, invernos com geadas poucos frequentes, sem estações bem definidas.

Foram conduzidos simultaneamente três experimentos em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 2 com cinco repetições, sendo os tratamentos a combinação de dois sistemas de cultivo (convencional e com inoculação de *Azospirillum brasilense*) e dois regimes de irrigação (com irrigação e com déficit hídrico).

Os experimentos foram conduzidos em vasos de polietileno de 8,5 litros preenchidos com Latossolo Vermelho eutroférico de textura argilosa, peneirado em malha de 5 mm. A adubação foi realizada conforme as necessidades da cultura, segundo as recomendações de Raij (1997). Para cada vaso foram semeadas seis sementes sendo que, após o estabelecimento das plantas, realizou-se o desbaste, onde permaneceram somente três plantas por vaso.

Para os tratamentos que possuíam a inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, foi utilizado 2 mL de solução contendo  $2 \times 10^8$  UFC ml<sup>-1</sup> para 1000 sementes. O trabalho foi dividido em três etapas. A 1ª etapa constituiu-se da condução dos experimentos até que o milho estivesse com seis folhas completamente expandidas (estágio V6). Nesta etapa foram realizadas medidas de evapotranspiração com o auxílio de um “mini-tanque” de evaporação com capacidades para 4 litros de água e área de 0,04 m<sup>2</sup>, instalado a 0,5 m do solo, no ambiente protegido, sendo as medidas realizadas a cada dois dias.

A 2ª fase correspondeu a suspensão da irrigação nos tratamentos com déficit hídrico, até o 5º dia depois da re-hidratação, realizada após as taxas de fotossíntese líquida média terem atingido valores menor ou igual a zero. A re-hidratação aplicada correspondeu à quantidade de água perdida por evapotranspiração potencial, estimada durante o período que se permaneceu sob déficit hídrico. Nesse período foram realizadas diariamente as análises de trocas gasosas.

As análises de taxa de fotossíntese líquida (*A*), taxa de transpiração (*E*), condutância estomática (*g<sub>s</sub>*) e concentração interna de CO<sub>2</sub> foram realizadas com auxílio do IRGA (Infra Red Gas Analyzer, Li-6400XT, Licor, Lincoln, Nebraska). Da relação entre *A* e *E*, pode-se calcular os valores de eficiência do uso de água (*EUA*).

A terceira fase constou da avaliação das análises biométricas, sendo que neste trabalho são apresentados apenas os resultados de matéria seca total produzida pelo milho.

Após tabulados, os dados foram submetidos à análise de variância pela estimativa *F* de Snedecor à 5% de probabilidade estatística e quando significativa para massa seca total, procedeu-se o teste de comparação de médias por Tukey a 5% de probabilidade.

## **Resultados e Discussão**

A partir da estimativa *F* de Snedecor pode-se constatar diferenças significativas à 5% de probabilidade entre os fatores analisados, sendo possível observar os diferentes comportamentos durante os dias de déficit hídrico e de recuperação, pela figura 1.

Na figura 1a têm-se *A* calculada pelo aparelho, em função dos dias de observações. Foram verificados diferentes comportamentos com a suspensão da irrigação, pois enquanto os

tratamentos sem déficit hídrico tendiam a aumentar ou estabilizar a  $A$ , nos primeiros seis dias, as taxas fotossintéticas continuaram decaindo constantemente naqueles em que foi imposto o período de déficit. Porém no quinto dia ocorreram valores muito próximos entre os quatro tratamentos, mas rapidamente as diferenças voltaram a aparecer.

No sétimo dia de imposição do déficit hídrico foram verificados valores semelhantes em  $A$ , menos para o tratamento sem déficit e sem inoculação, pois o dia estava nublado, com o tempo fechado e permaneceu até o oitavo dia, em que ocorreu precipitação pluvial, tornando as condições não adequadas para o bom funcionamento do IRGA e por isso a outra leitura só foi realizada no nono dia.

Ainda no sétimo dia realizou-se a re-hidratação total da água perdida pelos tratamentos em déficit. Logo na próxima avaliação foi possível verificar que as taxas fotossintéticas foram recuperadas, tendo como ponto mais alto o tratamento que se utilizou a inoculação com AbV5.

Dentre os fatores afetados em curto prazo, pelo déficit hídrico, destaca-se o fechamento estomático (TAIZ & ZEIGER, 2006) que teve um comportamento próximo ao observado tanto em  $A$  quanto em  $E$  (Figuras 1a, 1b e 1d). A falta de água nas folhas provoca perda de turgidez das células guardas de maneira que não é possível ocorrer a abertura estomática em níveis próximos aos das plantas sem déficit, como fica evidente principalmente na  $g_s$  do sexto dia de suspensão da irrigação.

A queda nas taxas de  $g_s$  afetam diretamente as taxas de  $E$  e  $A$ , e nesse caso até mesmo de  $C_i$  (Figura 1c). Porém influencia  $EUA$  (Figura 1e) de maneira indireta, pois essa variável relaciona quanto de água é transpirada para que a planta consiga integrar uma molécula de  $CO_2$  em algum composto orgânico. A  $C_i$  no milho sofre pouca variação devido à queda em  $g_s$  nos primeiros momentos, mas é aumentada quando os níveis de  $g_s$  caem para valores próximos à zero (ponto em que o déficit hídrico é muito severo).

O milho possui na bainha do mesofilo um mecanismo chamado de síndrome “krans”, típico de plantas  $C_4$ , que são células em forma de coroa que concentram o  $CO_2$ , aumentando dessa forma a eficiência de fotossíntese nessas plantas. E por esse motivo, a  $C_i$  inicialmente foi pouco alterada, mas quando a transpiração e entrada de  $CO_2$  são bloqueadas pelo fechamento estomático, ocorre um aumento instantâneo de  $C_i$ , que logo após a abertura dos estômatos, volta aos valores normais.

As plantas irrigadas como era de se esperar mantiveram-se com níveis mais altos de  $EUA$  do que as plantas sob déficit hídrico. Ocorreu um pico de  $EUA$  no quinto dia da

suspensão de irrigação para o tratamento com inoculação e sem déficit hídrico, e outro pico no sétimo dia para o tratamento não inoculado sem déficit também. Essas respostas estão ligadas as variações observadas tanto em *A* quanto em *E* nesses dois períodos.

Kramer & Boyer (1995) definem que o déficit hídrico pode ocasionar a perda de turgidez pelas células e que em condições déficit severo, provocam alterações nos processos de expansão celular, nas trocas gasosas com o ambiente e na fotossíntese de maneira mais específica.

Apesar das taxas de trocas gasosas terem sido fortemente afetadas pelo déficit hídrico, não foram verificadas diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade com relação às matérias secas totais produzidas pelas plantas aos cinco dias após a re-hidratação do milho. Bergonci et al. (2001) relatam que o déficit hídrico afeta às plantas principalmente nos estádios próximos da antese, e que na fase vegetativa de maneira geral os processos de redistribuição de fotoassimilados ocorrem de maneira mais lenta, de tal forma que se torna mais difícil perceber os efeitos na matéria seca total nessa fase.

### **Conclusão**

As trocas gasosas são influenciadas de formas diferentes quando inoculadas com AbV5 e submetidas ao déficit hídrico no estádio V6, porém não é possível observar diferenças entre matéria seca no milho em um curto espaço de tempo após a suspensão da irrigação.

### **Agradecimentos**

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fixação Biológica de Nitrogênio-INCT; à Fundação Araucária, Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná e à SETI, Secretaria do Estado de Ciência, Tecnologia e Ensino superior do Estado do Paraná; ao Departamento de Bioquímica e Biologia molecular da Universidade Federal do Paraná-UFPR e à Universidade Estadual do Oeste do Paraná-UNIOESTE.

### **Literatura Citada**

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). Canadian Journal of Microbiology, v.43, p.103-121, 1997.

BASHAN, Y.; HOLGUIN, G; DE-BASHAN, L.E. *Azospirillum*-plant relations physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Canadian Journal of Microbiology, v.50, p.521-577, 2004.

BERGAMASCHI H. Desenvolvimento de déficit hídrico em culturas. In: BERGAMASCHI, H. Agrometeorologia aplicada à irrigação. Porto Alegre: UFRGS, Ed.Universidade. p.25-32. 1992.

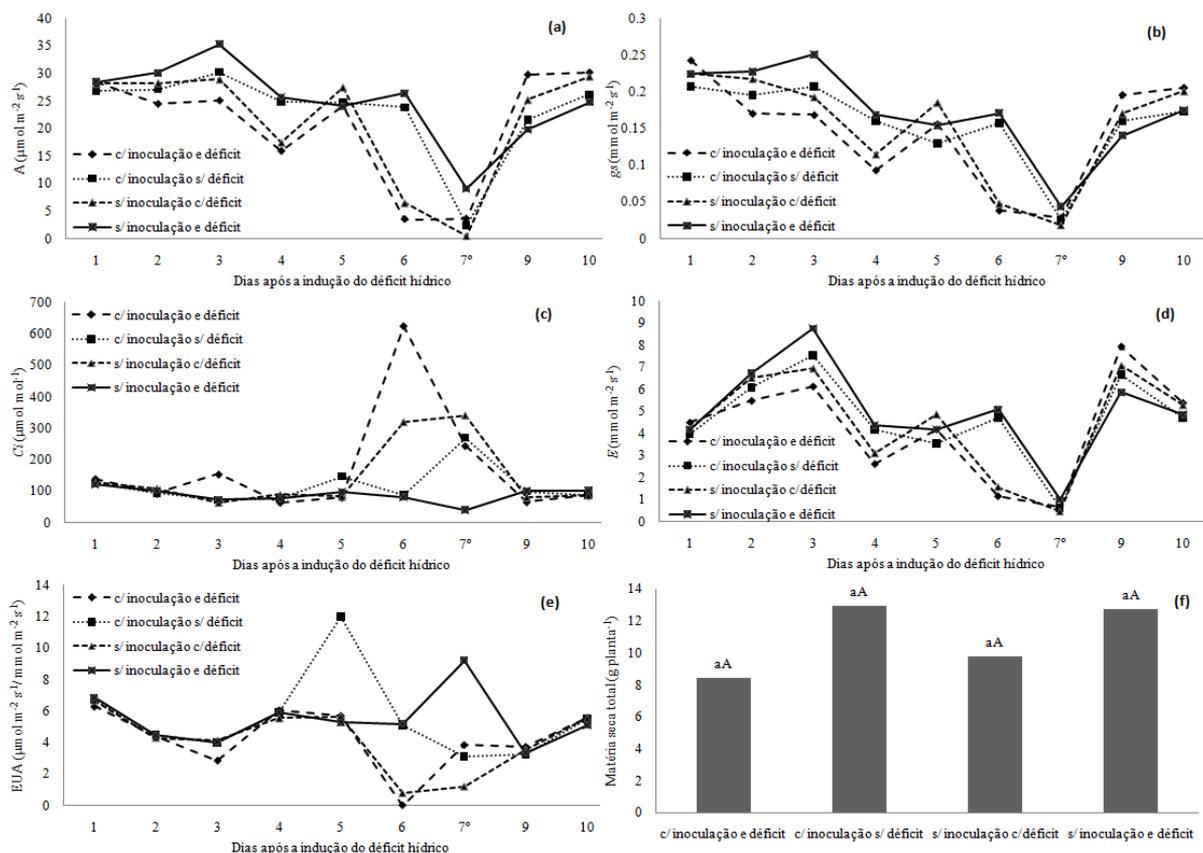
BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H.; SANTOS A.O.; FRANÇA, S.; RANDIN, B. Eficiência da irrigação em rendimento de grãos e matéria seca de milho. Pesq. agropec. bras., v.36, n.7, p. 949-956, 2001.

DOBBELAERE, S.; CROONRNBOGHES, A.; THYS, A.; PTACEK, D.; VANDERLEYDEN, J.; DUTTO, P.; LABANDERA-GONZALEZ, C.; CABALLERO-MELLADO, J.; AGUIRRE, J.F.; KAPULNIK, Y.; BRENER, S.; BURDMAN, S.; KADOURI, D.; SARIG, S.; OKON, Y. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. Australian Journal of Plant Physiology, v.28, p.871-879, 2001.

KRAMER, P.J.; BOYER J.S. Water relations of plants and soils. San Diego: Academic, 1995. 495p.

Lawlor DW.; Uprety DC. Effects of the water stress on the photosynthesis of crops and biochemical mechanism. In: Abrol YP, Mohanty P & Govindje E (Ed.) Photosynthesis: photoreactions to plant productivity. New Dehli, Oxford and IBH Publishing Co. p.419-449. 1993.

OKON, Y.; VANDERLEYDEN, J. Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants, Applied and Environmental Microbiology, New York, v.63, n.7, p.366-370, 1997.



**Figura 1.** Taxa de fotossíntese líquida (a), condutância estômática (b), concentração interna de  $\text{CO}_2$  (c), taxa de transpiração (d), eficiência do uso da água (e) e massa da matéria seca total aos 10 dias após a indução do déficit hídrico (f) de plantas de milho inoculadas com AbV5, Unioeste, Marechal Cândido Rondon-PR, 2012. °Data em que as plantas foram re-hidratadas. \*Médias seguidas pelas mesmas letras MAIÚSCULAS e MINÚSCULAS não se diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, para inoculação e regime hídrico, respectivamente.