



QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO EM RESPOSTA À ADUBAÇÃO NITROGENADA E À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

Érica de Oliveira Araújo⁽¹⁾, Danieli Pieretti Nunes⁽¹⁾, Fábio Martins Mercante⁽²⁾, Antonio Carlos Tadeu Vitorino⁽³⁾, Diego Augusto Espindola Mendes⁽⁴⁾, Silvana de Paula Quintão Scalon⁽³⁾

Introdução

Dentre os microrganismos diazotróficos encontrados em associações com gramíneas, as espécies de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* constituem os grupos mais bem estudados atualmente. As bactérias diazotróficas, do gênero *Azospirillum* e *Herbaspirillum*, se destacam por sua capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e também por estimular o crescimento das plantas por meio da produção de fitohormônios, de forma a permitir seu bom desenvolvimento (HUERGO et al., 2008); quando associadas à rizosfera podem contribuir com a adubação nitrogenada (CAVALLET et al., 2000).

Os resultados de inoculação destes gêneros são variáveis e efeitos significativos sobre a qualidade fisiológica de sementes têm sido relatados por vários autores (ARAÚJO et al., 2010; CONCEIÇÃO et al., 2008; LEE et al., 2006; PINTO JUNIOR et al., 2012).

Com base nos pontos abordados, a aplicação de bactérias diazotróficas com o objetivo de favorecer a germinação e o estabelecimento das plantas de milho, pode ser uma tecnologia de baixo custo e de fácil adoção. Assim, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com *A. brasilense* e *H. seropedicae*.

¹ Doutorando (a) em Agronomia, Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533.ericabb25@hotmail.com; danipiereti@gmail.com;

⁽²⁾ Pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163, km 253,6, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. fabio.mercante@cpao.embrapa.br;

⁽³⁾ Professor da Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533. antoniovitorino@ufgd.edu.br.

⁽⁴⁾ Graduando em Agronomia, Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Rodovia Dourados/Itahum, km 12, Cidade Universitária, CEP 79804-970, Dourados-MS, Brasil. Caixa Postal 533. diegobetfuer@hotmail.com.



Material e Métodos

O primeiro experimento foi realizado, na área experimental da Embrapa Agropecuária Oeste, situada no Município de Dourados-MS, de março a agosto de 2012. As coordenadas geográficas são 22° 14' S e 54° 9' W, com altitude média de 450 metros. O clima é do tipo Cwa, segundo a classificação de Köppen. O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférico, de textura muito argilosa (SANTOS et al., 2006).

Os resultados da análise química do solo, na profundidade de 0-20 cm, antes da instalação do experimento, apresentaram os seguintes valores: pH (CaCl₂) 4,5; M.O. 31,18 g dm⁻³; C: 18,13 g dm⁻³; P (melich): 22,07 mg dm⁻³; K: 6,0 mmolc dm⁻³; Ca: 35,4 mmolc dm⁻³; Mg: 8,7 mmolc dm⁻³; Al: 4,8 mmolc dm⁻³; H+Al: 62,1 mmolc dm⁻³; SB: 50,1 mmolc dm⁻³; CTC: 112,2 mmolc dm⁻³, saturação por bases 44,65%. A correção do solo e a adubação de base foram realizadas considerando-se os resultados da análise do solo. A área foi irrigada após a implantação da cultura e em períodos de maior déficit hídrico.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com nove tratamentos e seis repetições, sendo: 1. Controle sem N e sem inoculação; 2. Controle sem N e com *A. brasilense*; 3. Controle sem N e com *H. seropedicae*; 4. 30 kg N ha⁻¹ na semeadura; 5. 30 Kg N ha⁻¹ na semeadura + *A. brasilense*; 6. 30 Kg N ha⁻¹ na semeadura + *H. seropedicae*; 7. 30 kg N ha⁻¹ na semeadura + 90 kg N ha⁻¹ na cobertura; 8. 30 Kg N ha⁻¹ na semeadura + *A. brasilense* + 90 Kg N ha⁻¹ na cobertura; 9. 30 Kg N ha⁻¹ na semeadura + *H. seropedicae* + 90 Kg N ha⁻¹ na cobertura.

Foram utilizadas sementes do híbrido simples P3646H, sendo previamente inoculadas com o produto comercial, contendo uma combinação de duas estirpes de *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) em inoculante com formulação líquida e o inoculante contendo a estirpe Z-94 de *H. seropedicae*, em veículo à base de turfa, produzido na Embrapa Agrobiologia, Seropédica-RJ. A dose aplicada foi de 150 mL para cada 50 kg de sementes de milho para o inoculante com formulação líquida, e de 250 g para cada 10 kg de sementes de milho do inoculante com veículo à base de turfa.



A semeadura foi realizada manualmente, com o auxílio de “matraca”, colocando-se duas sementes por cova, deixando-se após o desbaste seis plantas por metro linear. Cada unidade experimental foi composta por quatro linhas de seis metros de comprimento espaçadas em 0,90 m entre linhas. Foram eliminadas as duas linhas laterais e 0,5 m de cada extremidade da parcela, avaliando os cinco metros de cada uma das duas linhas centrais.

A colheita do milho foi realizada manualmente, coletando-se todas as espigas da parcela útil. As espigas foram debulhadas com o auxílio de uma máquina manual. A massa de 100 sementes e a produtividade foi determinada em balança analítica, sendo os resultados posteriormente corrigidos para 13% de umidade.

Após a colheita, a qualidade fisiológica das sementes foi avaliada no Laboratório de Análise de Sementes da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, em Dourados-MS.

No segundo experimento, o delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com nove tratamentos e quatro repetições, conforme descritos anteriormente.

Os lotes de sementes foram submetidos ao teste de germinação e primeira contagem conforme descrito em Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O comprimento de plântulas foi realizado junto com o teste de germinação, e aos sete dias procedeu-se à medição. A massa seca de plântulas foi determinada utilizando as plântulas oriundas do teste de germinação empregadas na determinação do comprimento. Cada repetição foi acondicionada em sacos de papel e levada a estufa, com circulação forçada de ar, mantida à temperatura de 65 °C por 72 horas; os lotes foram pesados em balança de precisão de 0,001 g (NAKAGAWA, 1999).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

Resultados e Discussão

Houve resposta significativa entre os tratamentos para comprimento de plântulas, massa seca total de plântulas e produtividade (Tabela 1).



Tabela 1. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e teste de Tukey para massa de 100 sementes (M100S), porcentagem de germinação (G), primeira contagem (PC), comprimento de plântula (CP), massa seca total (MST) e produtividade (PRO) de plântulas de milho em resposta a doses de nitrogênio e à inoculação com bactérias diazotróficas.

Tratamentos	M100S (g)	G (%)	PC (%)	CP (cm plântula ⁻¹)	MST (g plântula ⁻¹)	PRO (kg ha ⁻¹)
1	36,07	95,75	87,0	15,00 b	1,23 c	9.460 bc
2	35,79	92,87	88,0	21,68 a	1,32 bc	9.430 bc
3	35,31	95,62	90,0	20,64 a	1,59 ab	9.219 c
4	35,26	93,87	87,0	20,92 a	1,61 ab	9.360 bc
5	34,67	96,12	89,0	21,12 a	1,54 abc	9.561 bc
6	35,56	94,62	86,0	22,65 a	1,60 ab	9.403 bc
7	36,21	96,75	93,0	21,56 a	1,67 a	10.303 a
8	35,87	95,62	91,0	23,27 a	1,68 a	9.931 ab
9	36,33	95,00	89,0	21,60 a	1,79 a	9.976 ab
Média	35,67	95,13	88,88	20,94	1,56	9.627
Teste F	0,58 ^{ns}	1,62 ^{ns}	0,75 ^{ns}	15,74*	7,12*	2,38*
CV(%)	3,89	1,97	5,71	5,72	8,44	4,82

* e ^{ns} – significativo e não significativo. Médias seguidas da mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O comprimento de plântulas foi afetado pela adubação nitrogenada e a inoculação com bactérias diazotróficas, diferindo estaticamente da testemunha (Tabela 1). Os tratamentos 6 (30 Kg N ha⁻¹ na semeadura + *H. seropedicae*) e 8 (30 Kg N ha⁻¹ na semeadura + *A. brasilense* + 90 Kg N ha⁻¹ na cobertura) apresentaram maiores valores de comprimento de plântulas, mesmo não diferindo estatisticamente entre eles. Em milho, Conceição et al. (2008) observaram que a inoculação com bactérias diazotróficas embora não tenha afetado a germinação das sementes, aumentou o desenvolvimento da parte aérea das plantas, provavelmente devido à ação das bactérias sobre o alongamento celular, pela turgescência vacuolar. Karthikeyan et al. (2007), também observaram que a inoculação da semente de *Catharanthus roseus* (L.) com bactérias diazotróficas (*Azospirillum e Azotobacter*), aumentou o comprimento de raiz, da parte aérea, assim como o vigor e o acúmulo de massa seca das plântulas de milho.

A presença de bactérias fixadoras de nitrogênio e/ou do adubo nitrogenado favoreceu a produção de massa seca total, assim como a ausência do nitrogênio diminuiu o



rendimento de massa seca (Tabela 1). O tratamento 9 (30 kg N ha⁻¹ na semeadura + *H. seropedicae* + 90 kg N ha⁻¹ na cobertura) apresentou valores de massa seca total superior aos demais tratamentos, confirmando a relação benéfica proporcionada pela inoculação de *Herbaspirillum spp.* nas plantas de milho, uma vez que as plantas inoculadas com a bactéria obtiveram o maior peso em relação à massa seca total. Salienta-se que esse maior rendimento de massa seca por plantas inoculadas possa ser devido à produção de substâncias promotoras de crescimento pelas bactérias.

As maiores produtividades de sementes de milho foram obtidas pelos tratamentos 7, 8 e 9, ou seja, com a adubação nitrogenada e com a inoculação das sementes com o *Azospirillum spp.* e *Herbaspirillum spp.*, respectivamente (Tabela 1). O tratamento 7 promoveu rendimento de grãos do milho na ordem de 8,90%, em comparação com a testemunha não tratada (tratamento 1), enquanto que os tratamentos 8 e 9 promoveram incremento no rendimento na ordem de 4,73% e 5,17%, não diferindo estatisticamente do tratamento 7. Resultados similares de aumento de produção com o uso de *Azospirillum* também foram relatados por Hungria et al. (2010) e Lana et al. (2012), onde verificaram aumento na produtividade de grãos de milho de 26% e 15,4%, respectivamente.

Conclusões

O comprimento de plântulas e a produção de massa seca são influenciados pela inoculação com as bactérias diazotróficas em associação com adubação nitrogenada.

A inoculação das sementes de milho com *A. brasilense*, *H. seropedicae* e o uso da adubação nitrogenada promove aumentos na produtividade de sementes de milho.

Referências

ARAÚJO, A. E. S.; ROSSETO, C. A. V.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Germinação e vigor de sementes de arroz inoculadas com bactérias diazotróficas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 932-939, jul./ago. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 2009. 398 p. Disponível em: <<http://www.bs.cca.ufsc.br/publicacoes/regras%20analise%20sementes.pdf>>. Acesso em: 18 set. 2013.



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

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

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. (Comp.). ***Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17-35.

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**, Dordrecht, v. 331, n. 1/2, p. 413-425, 2010.

KARTHIKEYAN, B.; JALEEL, C. A.; GOPI, R.; DEIVEEKASUNDARAN, M. Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activities in *Catharanthus roseus* under seed priming with native diazotrophs. **Journal of Zhejiang University: science B**, Hangzhou, v. 8, n. 7, p. 453-457, 2007.

LANA, M. C.; DARTORA, J.; MARINI, M.; HANN, J. E. Inoculation with *Azospirillum*, associated with nitrogen fertilization in maize. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 59, n. 3, p. 399-405, May/June 2012.

LEE, H. S.; MADHAIYAN, M.; KIM, C. W.; CHOI, S. J.; CHUNG, K. Y. Physiological enhancement of early growth of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) by production of phytohormone of N₂-fixing methylotrophic isolates. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 42, n. 5, p. 402-408, June 2006.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseado no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. p. 1-24.

PINTO JUNIOR, A. S.; GUIMARÃES, V. F.; RODRIGUES, L. F. O. S.; SILVA, M. B.; INAGAKI, A. M.; DIAMANTE, M. S.; OFFEMANN, L. C. Qualidade de sementes de milho oriundas da inoculação combinada de três estirpes de *Azospirillum brasilense*. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindóia. **Diversidade e inovações na era dos transgênicos: resumos expandidos**. Campinas: Instituto Agrônomo; Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012. 1 CD-ROM.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; OLIVEIRA, J. B. de; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. (Ed.). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.