



***Paenibacillus riograndensis* e *Azospirillum brasilense* no tratamento de sementes de trigo associado à adubação nitrogenada⁽¹⁾.**

Leandro Rampim⁽²⁾; Vandeir Francisco Guimarães⁽³⁾; Débora Kestring Klein⁽²⁾; Luiz Claudio Offemann⁽⁴⁾; Andre Gustavo Battistus⁽⁴⁾; Lucas Guilherme Bulegon⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da CAPES/PNPD, CNPq, INCT-FBN, SETI-PR, Fundação Araucária e Unioeste/PPGA.

⁽²⁾ Pesquisador(a) Científico CAPES/PNPD, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: rampimleandro@yahoo.com.br; deborakestring@yahoo.com.br; ⁽³⁾ Prof. Associado do CCA, Unioeste, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: vandeirfg@yahoo.com.br; ⁽⁴⁾ Estudantes de Pós-graduação, Unioeste, Marechal Cândido Rondon, PR. E-mail: l.offemann@hotmail.com; andre_battistus@hotmail.com; lucas_bulegon@yahoo.com.br.

RESUMO: É necessário testar afinidade de estirpes bacterianas, como *Paenibacillus riograndensis* na cultura de trigo, comparando com *Azospirillum brasilense*, visando buscar estirpe mais específica. De forma que o objetivo do trabalho foi avaliar inoculação de *P. riograndensis* comparativamente com *A. brasilense* em sementes de trigo associado à adubação nitrogenada. O experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados com sete tratamentos e com quatro repetições: 0 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N) (testemunha); 50 % de N (40 kg ha⁻¹ de N com ureia); 100 % de N (80 kg ha⁻¹ de N); 50 % de N + inoculação de sementes com 100 mL para 200 kg de semente de *A. brasilense* estirpes AbV5+AbV6 estirpes AbV5+AbV6; 50 % de N + inoculação com 1, 1,5 e 2,0 mL por Kg de semente CD 150 de *P. riograndensis*. Foi avaliado variáveis biométricas no florescimento, além da produtividade de grãos. O uso de 100 % de N, 50 % de N tanto com *A. brasilense* quanto *Paenibacillus riograndensis* na dose de 1,5 mL kg⁻¹ de sementes apresentaram respostas positivas no florescimento da cultura de trigo CD 150, proporcionando maior desenvolvimento da parte aérea. O *P. riograndensis* interferiu no desenvolvimento das plantas de trigo, contudo, é necessário mais ensaios para identificar dose mais adequada à cultivar, e ainda se há diferentes respostas entre cultivares. Inoculação de sementes de trigo CD 150 com 50 % de N + *P. riograndensis* na dose de 1,5 mL kg⁻¹ de sementes se destacou, contudo sem resposta na produtividade.

Termos de indexação: bactérias diazotróficas; promoção de crescimento; sustentabilidade.

INTRODUÇÃO

É necessário elevar produtividade da cultura de trigo, assim como reduzir os custos, sendo pertinente aplicar novas tecnologias, tanto pela redução de fertilizantes nitrogenados, como pelo maior aproveitando do nitrogênio (N) aplicado pelas

adubações e/ou presente no solo, além da utilização de produtos biológicos, os quais permitem maior equilíbrio ambiental.

Práticas que aproveitem os processos biológicos, como a fixação biológica de N (FBN) e a utilização de rizobactérias promotoras de crescimento plantas (RPCPs) vem se destacando nos sistemas de produção, com inoculantes em sementes (Baldani e Baldani, 2005; Hungria, 2011).

Neste contexto, a inoculação de bactérias diazotróficas, como *Azospirillum brasilense*, tem favorecido o desenvolvimento de gramíneas, permitindo minimizar adubação nitrogenada assim como melhorar o desenvolvimento do sistema radicular e parte aérea, devido produção de auxinas e giberelinas, com conseqüente aumento na produtividade (Baldani et al., 1997; Hungria, 2011; Rodrigues et al., 2012).

Recentemente tem sido estudado a bactéria *Paenibacillus brasilensis* (Von der Weid et al., 2002) e *Paenibacillus riograndensis* SBR5^T (Beneduzi et al., 2008; Beneduzi et al., 2010), tanto para FBN quanto para promoção de crescimento. Segundo Beneduzi et al. (2010), *Paenibacillus* tem potencial biotecnológico na agricultura através de novos inoculantes com maior afinidade com a cultura de trigo, para incremento na produção de grãos, proporcionando maior rentabilidade ao produtor ao utilizar produtos com maior especificidade para cultura e/ou cultivar.

Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar *P. riograndensis* comparativamente com *A. brasilense*, estirpes AbV5+AbV6 na inoculação de sementes de trigo associado à adubação nitrogenada.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Fazenda Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - Campus Toledo, município de Toledo - Paraná. A referida área encontra-se sob Latitude de 24°40'S, Longitude 54°16'W, e altitude de 248 metros, com solo classificado como Latossolo



Vermelho Eutroférico de textura muito argilosa.

O clima da região segundo classificação de Köppen denomina-se Subtropical Úmido Mesotérmico (Cfa). A precipitação pluviométrica em Toledo/PR no período compreendido entre semeadura e colheita foi de 712 mm, sem ocorrência de geadas no período, contudo ocorreu estiagem durante período de 25/07/2014 – 01/09/2014.

Tratamentos e amostragens

O experimento foi executado em delineamento em blocos casualizados com sete tratamentos e quatro repetições, totalizando 28 parcelas experimentais. O ensaio foi constituído dos seguintes tratamentos: 0 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N), sem inoculação (testemunha); 50 % de N (40 kg ha⁻¹ de N), sem inoculação; 100 % de N (80 kg ha⁻¹ de N), sem inoculação; 50 % de N (40 kg ha⁻¹ de N) + inoculação de sementes com inoculante líquido *Azospirillum brasilense* (estirpes AbV5+AbV6) (2x10⁸ UFC/mL), na dose de 100 mL ha⁻¹ (foi usado 200 kg de semente por hectare, ou seja, 100mL para 200 kg de semente); 50 % de N (40 kg ha⁻¹ de N) + inoculação de sementes com *Paenibacillus riograndensis* (2,22x10⁸ UFC/mL), nas doses de 1, 1,5 e 2 mL por Kg de semente.

A adubação nitrogenada foi realizada em duas aplicações à lanço, parte na semeadura e restante no perfilhamento com uréia. No experimento, foi estabelecido com 0 % de N (ausência total de N tanto na semeadura quanto à lanço); 50% de N (15 kg ha⁻¹ de N na semeadura e 25 kg ha⁻¹ de N à lanço) e 100% de N (30 kg ha⁻¹ de N na semeadura e 50 kg ha⁻¹ de N à lanço). Foi realizado adubação de base com 40 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 40 kg ha⁻¹ de K₂O.

Para a implantação do ensaio foi utilizado sementes de trigo cultivar CD 150, o qual apresenta ciclo precoce e elevada exigência em fertilidade do solo. A semeadura foi realizada em 19 de maio de 2014 com o auxílio de semeadora de arrasto, distribuindo-se 95 sementes por metro no sulco de semeadura em espaçamento de 0,17 m. Cada parcela experimental foi constituída por 7 m de comprimento e 5,44 m de largura, totalizando área de 38,08 m², e área útil de 8,5 m² por parcela.

No perfilhamento foi executado a medição do número de plantas por metro (NP), com medição de 3 metros em cada parcela (contagem do número de plantas em 3 pontos de coleta de 1 m na parcela).

No florescimento foi avaliado plantas de trigo presente em 0,6 m na linha (coletado em três pontos aleatórios na parcela com 0,20 m de linha). Foi avaliado a comprimento total (CT, realizada com o auxílio de uma régua graduada, onde foi definida como sendo à distância do nível do solo até a folha mais alta da planta, expresso em cm), comprimento

da folha bandeira (CF, em cm), comprimento de espiga (CE, em cm), diâmetro do colmo (DC, realizado com o auxílio de paquímetro digital, em mm) e área foliar (AF, determinada por AREA METER modelo Li-3100C, em cm²).

Posteriormente, amostras foram submetidos à secagem em estufa a 65°C, até atingirem massa constante, obtendo-se em balança de precisão a massa de matéria seca de folhas (MSF) e massa de matéria seca de colmo (MSB), massa seca de espiga (MSE).

A colheita foi realizada em 18 de setembro de 2014 na parcela útil, com determinação do número de plantas e produtividade de grãos.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05). As análises foram efetuadas utilizando-se o programa computacional Sisvar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De forma geral, no florescimento das plantas, o uso de 40 kg ha⁻¹ de N com dose de 1,5 mL kg⁻¹ de semente de inoculante *P. riograndensis* na cultura do trigo CD 150 se destaca para o desenvolvimento das plantas de trigo (**Tabela 1**). Tanto que ao comparar com o tratamento com inoculante *A. brasilense*, a constatação de promoção de crescimento repercutiu em maior área foliar das plantas de trigo, provavelmente devido aos valores de comprimento de folha (valor superior a testemunha e igual ao uso de 80 kg ha⁻¹ de N sem inoculação). Assim, as plantas apresentaram maior desenvolvimento vegetativo (comprimento de folha superior) e ainda se tornaram mais rústicas (com valores de 2,50 mm de diâmetro de colmo), mantendo a elevação da área foliar das plantas em relação a testemunha, sendo semelhante à 80 kg ha⁻¹ de N sem inoculação. O uso de 40 kg ha⁻¹ de N com 1,5 mL kg⁻¹ de semente com *P. riograndensis* e 40 kg ha⁻¹ de N com inoculante *A. brasilense* se aproximaram do uso de 80 kg ha⁻¹ de N sem inoculação para os valores de área foliar (relacionado com maior crescimento de folha).

Para comprimento de folha houve superioridade dos tratamentos 80 kg ha⁻¹ de N sem inoculante e 40 kg ha⁻¹ de N com 1,5 mL kg⁻¹ de semente com *P. riograndensis* em relação a testemunha, podendo ter relação com os valores de área foliar. Tais resultados indicam possível promoção de crescimento pelo *P. riograndensis*, conforme relatado em testes básicos e iniciais em laboratório (Beneduzi et al., 2010; Beneduzi et al., 2011; Fernandes et al., 2014). Contudo, ressalta-se que,



segundo Çakmakçi, et al. (2006), efeitos na promoção de crescimento depende da relação da estirpe bacteriana com as condições ambientais, planta hospedeira e condições do solo.

O número de plantas foi avaliado no perfilhamento e na maturação, não sendo observado diferença estatística entre os tratamentos em ambos os momentos de avaliação (Tabela 2). Contudo, no perfilhamento, o número de plantas apresentou valores 12,88%, 2,30% e 5,70% menor que a testemunha para uso de 40 kg ha⁻¹ de N com 1 mL, 1,5 mL e 2 mL kg⁻¹ de semente com *P. riograndensis*, respectivamente. Lebuhn et al. (1997) relataram que a inoculação de sementes de trigo com *Paenibacillus polymyxa* reduziram o comprimento e raízes laterais, fato que pode reduzir tolerância a ambientes com menor disponibilidade hídrica (estiagem ocorrida principalmente no mês de agosto).

Para as variáveis massa de folhas, colmos e espigas em 10 plantas não foi observado diferença entre os tratamentos testados, no entanto, o tratamento com uso de 40 kg ha⁻¹ de N com 1,5 mL kg⁻¹ de semente com *P. riograndensis* apresentou valores semelhantes a 40 kg ha⁻¹ de N com *A. brasilense* e 80 kg ha⁻¹ de N, com valores de massa de 10 folhas 100% maior que a testemunha.

Por outro lado, os resultados nas variáveis biométricas não refletiram na produtividade, a qual também foi semelhante entre todos os tratamentos. Porém, o tratamento com 80 kg ha⁻¹ de N (destaque na massa de folhas) apresentou valor 22,76% maior que a testemunha. Os valores de produtividade ao utilizar com 1,5 e 2 mL kg⁻¹ de semente com *P. riograndensis* foram próximos a testemunha, de fato, a associação de clima adverso e maior demanda de N nestes tratamentos (dose menor que recomendada), indicado pelas variáveis biométricas no florescimento, para terem condições de suportar as condições adversas.

Neste contexto, é possível verificar, que solos com dificuldade de disponibilizar nitrogênio na ausência de volume adequado de chuva precisam de adubação correta de nitrogênio, não sendo adequado utilizar redução de nitrogênio (40 kg ha⁻¹ de N), devendo seguir exigências da cultura e até mesmo recomendações oficiais, pois podem agravar e prejudicar utilização de novas tecnologias em condições climáticas adversas. De fato, Rodriguez-Blanco et al. (2015) enfatizam que a busca por inoculantes com bactérias diazotróficas, fixadoras de N e promotores de crescimento, também deve ter relação direta com dose de fertilizante nitrogenado utilizado assim como com a cultivar de cada espécie cultivada.

CONCLUSÕES

Inoculação de sementes de trigo com *P. riograndensis* reduz número de plantas da cultivar CD 150.

O uso de 50 % de N (40 kg ha⁻¹ de N) + inoculante líquido *P. riograndensis* na dose de 1,5 mL kg⁻¹ de sementes favorece o desenvolvimento da parte aérea da cultura do trigo, contudo sem resposta na produtividade.

AGRADECIMENTOS

À CAPES/PNPD, ao CNPq, ao INCT-FBN, à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Estado do Paraná, à Fundação Araucária e à Unioeste/PPGA, pelo suporte financeiro. À bolsa em Produtividade em Pesquisa 2 do CNPQ a Vandeir Francisco Guimarães.

REFERÊNCIAS

- BALDANI, J. I. & BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: Special emphasis on the Brazilian experience. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 77:549-579, 2005.
- BALDANI, J. I.; CARUSO, L.; BALDANI, V. L. D.; GOI, S. R. & DÖBEREINER, J. Recent advances in BNF with non-legume plants. Soil Biology and Biochemistry, 29:911-922, 1997.
- BENEDUZI, A.; COSTA, P. B.; PARMA, M.; MELO, I. S.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. & PASSAGLIA, L. M. P. *Paenibacillus riograndensis* sp. nov., a nitrogenfixing species isolated from the rhizosphere of *Triticum aestivum*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 60:128-133, 2010.
- BENEDUZI, A.; PERES, D.; COSTA, P. B.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. & PASSAGLIA, L. M. P. Genetic and phenotypic diversity of plant-growth-promoting bacilli isolated from wheat fields in southern Brazil. Research in Microbiology, 159:244-250, 2008.
- ÇAKMAKÇI, R.; DÖNMEZ, F.; AYDIN, A. & SAHIN, F. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. Soil Biology & Biochemistry, 38:1482-1487, 2006.
- FERNANDES, G. C.; TRARBACH, L. J.; CAMPOS, A. B.; BENEDUZI, A. & PASSAGLIA, L. M. P. Alternative nitrogenase and pseudogenes: unique features of the *Paenibacillus riograndensis* nitrogen fixation system. Research in Microbiology, 165:571-580, 2014.
- HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p.



LEBUHN, M.; HEULIN, T. & HARTMANN, A. Production of auxin and other indolic and phenolic compounds by *Paenibacillus polymyxa* strains isolated from different proximity to plant roots. *FEMS Microbiology Ecology*, 22:325-334, 1997.

RODRIGUES, A. C.; ANTUNES, J. E. L.; MEDEIROS, V.V. de; BARROS, B. G. de F. & FIGUEIREDO, M. do V. B. Resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi. *Bioscience Journal*, 28:196-202, 2012.

RODRÍGUEZ-BLANCO, A.; SICARDI, M. & FRIONI, L

Plant genotype and nitrogen fertilization effects on abundance and diversity of diazotrophic bacteria associated with maize (*Zea mays* L.). *Biology and Fertility of Soils*, 51:391-402, 2015.

von der WEID, I.; DUARTE, G. F.; van ELSAS, J. D. & SELDIN, L. *Paenibacillus brasiliensis* sp. nov., a new nitrogen-fixing species isolated from the maize rhizosphere in Brazil. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 52:2147-2153, 2002.

Tabela 1. Valores de diâmetro de colmo, comprimento (COMP) de folha, espiga e total, e área foliar no estágio de florescimento do trigo cultivar CD 150 inoculado com *A. brasilense* e *P. riograndensis* associado a adubação nitrogenada. Toledo/PR, 2014.

Tratamentos	Diâmetro colmo	COMP folha	COMP espiga	COMP total	Área Foliar
	mm		cm		cm ²
Sem N (Testemunha)	1,75	12,75 b	4,75 b	47,00 b	92,00 b
40 kg ha ⁻¹ de N	2,00	16,00 ab	6,00 ab	54,00 ab	99,25 ab
80 kg ha ⁻¹ de N	2,25	19,00 a	6,50 a	57,00 a	133,75 a
40 kg ha ⁻¹ de N/ <i>A. brasilense</i>	2,50	16,75 ab	6,25 a	56,75 a	100,00 ab
40 kg ha ⁻¹ de N/ 1 mL <i>P. riograndensis</i>	2,00	14,50 ab	5,75 ab	49,50 ab	96,00 b
40 kg ha ⁻¹ de N/ 1,5 mL <i>P. riograndensis</i>	2,18	17,72 a	6,48 a	56,77 a	105,50 ab
40 kg ha ⁻¹ de N/ 2 mL <i>P. riograndensis</i>	2,50	15,75 ab	6,25 a	57,00 a	83,50 b
Média	2,17	16,07	6,00	53,79	101,43
C.V. (%)	20,45	12,91	10,05	7,11	15,69
D.M.S. Tukey	1,04	4,84	1,41	8,94	37,21
F	1,56 ^{ns}	3,93 ^{**}	4,09 ^{**}	4,35 ^{**}	3,97 ^{**}

^{ns} não significativo a 5% de erro, ^{**} Significativo a 1% e ^{*} Significativo 5%, pelo teste F.

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro pelo teste Tukey.

Tabela 2. Valores de número de plantas no perfilhamento e massa de folhas, colmo e espigas no estágio de florescimento, número de plantas e produtividade de grãos no estágio de maturação (colheita) de trigo cultivar CD 150 inoculado com *A. brasilense* e *P. riograndensis* associado a adubação nitrogenada. Toledo/PR, 2014.

Tratamentos ⁽¹⁾	Nº plantas no perfilhamento	Massa folhas de 10 plantas	Massa colmo de 10 plantas	Massa espigas de 10 plantas	Nº plantas na maturação (colheita)	Produtividade de grãos
						Kg ha ⁻¹
Sem N (Testemunha)	73,75	1,00	6,00	3,00	61,50	1166,25
40 kg ha ⁻¹ de N	82,50	1,75	7,00	3,25	64,75	1096,50
80 kg ha ⁻¹ de N	77,00	2,00	6,50	3,50	70,50	1431,75
40 kg ha ⁻¹ de N/ <i>A. brasilense</i>	73,75	2,00	6,00	3,25	61,00	1068,75
40 kg ha ⁻¹ de N/ 1 mL <i>P. riograndensis</i>	64,25	1,50	7,00	3,75	64,00	1327,50
40 kg ha ⁻¹ de N/ 1,5 mL <i>P. riograndensis</i>	72,00	2,00	6,75	3,75	63,00	1180,00
40 kg ha ⁻¹ de N/ 2 mL <i>P. riograndensis</i>	69,50	1,75	6,25	3,50	62,75	1133,25
Média	73,25	1,71	6,50	3,42	63,93	1200,57
C.V. (%)	16,16	25,19	18,62	17,04	15,13	19,81
D.M.S. Tukey	27,67	1,01	2,83	1,37	22,60	555,89
F	0,94 ^{ns}	2,87 [*]	0,51 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,43 ^{ns}	1,22 ^{ns}

^{ns} não significativo a 5% de erro, ^{**} Significativo a 5%, pelo teste F.