



Influência de doses de *Azospirillum brasilense* na germinação e desenvolvimento inicial de nabo forrageiro⁽¹⁾

Débora Kestring-Klein⁽²⁾; Leandro Rampim⁽²⁾; Andre Gustavo Battistus⁽³⁾; Lucas Guilherme Bulegon⁽³⁾; Jonas Fancisco Egewarth⁽³⁾; Vandeir Francisco Guimarães^(4*)

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do CAPES/PNPD, CNPq, INCT-FBN, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Estado do Paraná, Fundação Araucária e à Unioeste/PPGA.

⁽²⁾ Bolsista do PNPD - Programa Nacional de Pós-doutorado no Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Agronomia - nível mestrado e Doutorado, Campus de Marechal Cândido Rondon; deborakestring@yahoo.com.br; ⁽³⁾ Pós-graduando na PPGA/ Unioeste; ^(4*) Professor Adjunto na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, Bolsista de Produtividade em Pesquisa 2 do CNPq

RESUMO: Bactérias diazotróficas com ações na promoção de crescimento de vegetais, interagindo com o cultivo de nabo forrageiro em sistema de plantio direto, pode contribuir para as condições físicas, químicas e microbiológicas do solo, tanto a curto como longo prazo. Neste sentido, objetivou avaliar a influência de diferentes concentrações destes microrganismos na germinação e desenvolvimento inicial de sementes de *Raphanus sativus* L.. O experimento foi realizado em câmara de germinação do tipo B.O.D., em delineamento inteiramente casualizado, com 6 concentrações de *A. brasilense*: 0; 50; 100; 200; 400 e 800mL.20kg⁻¹ de sementes, com 4 repetições. Após tratadas, as sementes foram acondicionadas em caixas gerbox, com papel germitest umedecido, na temperatura média de 20±1°C e fotoperíodo de 12:12. Foram realizadas as seguintes avaliações: porcentagem de germinação (4 em 4 horas) até completar 56 horas após a semeadura (56 HAS); índice de velocidade de germinação (IVG) e análise morfométricas. Foram realizadas análise de variância seguidos de teste de Tukey (p< 0,05). Verificou-se interação entre os tratamentos para o comprimento da parte aérea (CPA) e germinação ao final de 28 HAS. De modo geral, verificou-se que a concentração de 200mL proporcionou maior incremento para ambas as variáveis comparados ao tratamento de 50mL. Assim, nas condições testadas, conclui-se que a concentração de 200 mL.20kg⁻¹ de sementes de nabo pode ser indicada para incrementar a germinação e desenvolvimento inicial de nabo forrageiro não produzindo prejuízos ao cultivo.

Termos de indexação: *Raphanus sativus* L.; Bactérias diazotrófica; Adubo verde.

INTRODUÇÃO

A utilização de determinadas espécies para cobertura do solo e/ou adubação verde é prática recomendada para integrar a rotação de culturas no sistema plantio direto (SPD). Com adoção do SPD, o uso de plantas para a formação de cobertura morta se torna essencial, visto que o sucesso está baseado na permanente disponibilidade de material

vegetal sobre a superfície do solo (Lima et al., 2012).

Neste sentido, tem-se a espécie *Raphanus sativus* L. (nabo forrageiro), pertencente à família Brassicaceae (Crucifera), ciclo anual, alógama, herbácea, ereta, muito ramificada e que pode atingir 1,80 m de altura (Derpsch & Calegari, 1992). A espécie tem sido empregada nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, como material para adubação verde no inverno ou semeadura simultânea ou não de duas ou mais culturas numa mesma área (Doneda et al., 2012), protegendo o solo contra erosão (Crusciol et al., 2005; Lima et al., 2007), consequentemente, melhora as características físicas, químicas e biológicas do solo (Crusciol et al., 2005; Seben Junior et al., 2014), favorecendo manutenção e elevação da produtividade de grãos das culturas principais (Lázaro et al., 2013; Seben Junior et al., 2014).

A identificação de estratégias de manejo da lavoura que possam fornecer nutrientes aos sistemas agrícolas, com redução de custo de produção e minimização do impacto ambiental, além de aumentar a exploração das camadas do solo com plantas que apresentem sistemas radiculares mais profundos com o uso de adubos verde, são essenciais para aumentar margem de lucro do produtor e preservar o meio ambiente.

Dentre estas bactérias como o *Azospirillum brasilense* podem auxiliar no crescimento e desenvolvimento da cultura através da disponibilização de nutrientes pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico e também pela produção de diversos hormônios vegetais, resultando no maior crescimento do sistema radicular e, consequentemente, na maior absorção de água e nutrientes (Döbereiner, 1997; Baldani & Baldani, 2005). Assim, repercutindo em maior desenvolvimento das plantas e maior produtividade de grãos (Hungria et al., 2015).

Desta forma, com a intensificação do uso de bactérias fixadoras de nitrogênio e promotoras de crescimento de plantas em diversas espécies cultivadas na última década, principalmente pela redução na aplicação de fertilizantes nitrogenadas e/ou pelo maior aproveitamento de nitrogênio e



outros nutrientes no solo obtido com maior desenvolvimento do sistema radicular, há necessidade em conhecer a interferência de bactérias como o *A. Brasilense* em adubos verde utilizados na rotação de culturas, em sistema de plantio direto, na rotação entre as culturas comerciais soja, trigo e milho.

Neste sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar germinação e desenvolvimento inicial de sementes de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) inoculadas com *Azospirillum brasilense* AbV5+AbV6.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em câmara germinação do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*), pertencente ao Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, Câmpus de Marechal Cândido de Rondon-PR, no mês de novembro de 2014.

Tratamentos e amostragens

O delineamento experimental foi blocos ao acaso com 6 diferentes concentrações de inoculante com quatro repetições, perfazendo 24 parcelas experimentais. As doses de bactérias *Azospirillum brasilense* utilizadas foram: 0, 50, 100, 200, 400 e 800mL.20kg⁻¹ de sementes de nabo forrageiro. As estirpes de *A. Brasilense* foram AbV5 e AbV6 do produto Simbiose Maíz[®], com formulação em estado aquoso com densidade de 1,00 g.cm⁻³. Esse composto possuía concentração específica do patrocinador dos seguintes componentes: água (solvente/suporte), extrato de levedura (cloreto de amônio – fonte de nitrogênios e vitaminas), glicerol e ácido málico (fonte de carbono), fosfato de potássio, sulfato de magnésio, cloreto de sódio, cloreto de cálcio, EDTA férrico, sulfato de cobre, sulfato de zinco, ácido bórico, molibdato de sódio e sulfato de manganês (fonte de nitrogênio).

As bactérias foram dispensadas por microbiolização, 0,2 mL de inoculante na concentração de 5 x 10⁸ unidades formadoras de colônias (UFC) mL⁻¹. Após o tratamento, as sementes foram homogeneização em sacos de polietileno e mantidas em descanso durante 2 horas antes semeadas. A semeadura foi realizada caixas transparentes de polietileno com tampa (tipo gerbox, dimensões de 10x11x3 cm), contendo como substrato duas folhas de folhas de papel germitest umedecidas com água destilada equivalente a 2,5 vezes a sua massa. Os gerbox foram mantidos em ambiente com temperatura de 20±1°C e fotoperíodo de luminosidade com 12 horas de luz e 12 horas de escuro em câmara germinação (B.O.D.).

Posteriormente foram realizadas as avaliações, conforme a regra de análise de sementes (BRASIL, 2010), para obter o índice de velocidade de

germinação (IVG), foi realizado o seguinte procedimento: a partir do momento da semeadura das sementes, fez-se contagem a cada 4 horas do número de sementes germinadas até 54 dias após a semeadura (56HAS) (MAGUIRE, 1962). Para a determinação da percentagem de germinadas (GER), foi considerada duas contagens (28 e 56HAS). Para esta variável considerou-se germinadas sementes com protusão radicular igual ou superior a 1 mm.

Em seguida, foram separaram-se 10 plântulas por tratamento, para serem avaliadas as variáveis biométricas relativas ao desenvolvimento inicial das plântulas: comprimento de raiz (CSR) (em cm) e comprimento de parte aérea (CPA) (em cm), realizadas com o auxílio de uma régua graduada (cm). Também foi avaliado o diâmetro de coleto (DC) (mm), através de um paquímetro digital, e, ainda. As raízes e a parte aérea das mudas foram separadas e colocadas em sacos de papel e secadas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas, para quantificar a massa de matéria seca da raiz (MSR) e a massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) (mg).

Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância no software SISVAR 5.1 (Ferreira, 2011), e quando pertinente as médias das doses de inoculante testadas foram comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05). Foi realizado teste de médias, pois, pequena alteração na produção de hormônios pelas bactérias podem alterar o desenvolvimento na planta (Hungria et al., 2015), a qual é sensível a alteração mínima na concentração de hormônios (Taiz & Zeiger, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância determinou a presença de diferenças significativas entre as concentrações de *A. brasilense* para as variáveis comprimento da parte aérea (CPA) e índice de germinação ao final de 28 horas após a semeadura (HAS) (p<0,05%), (**Tabela 1**). As demais variáveis não sofreram influências dos tratamentos testados (p>0,05%).

Mesmo considerado pequeno o período final de avaliação, nota-se alterações ao analisar o comportamento do CPA em função das diferentes concentrações de *A. brasilense* (**Figura 1**).

Verifica-se que ao adicionar a concentração de 200mL 20kg⁻¹ as sementes de nabo forrageiro, um maior incremento quando comparada as plântulas que foram originadas do tratamentos controle (ausência de inoculação) e 50mL 20kg⁻¹ (**Figura 1**).

Tabela 1 - Análise de variância de plântulas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) e inoculação das sementes com diferentes doses de *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5+AbV6.

	CPA	CR	DC	MST	28H	56H	IVG
Trat	3,18*	2,197 ^{ns}	0,97 ^{ns}	1,98 ^{ns}	2,62*	1,13 ^{ns}	2,66 ^{ns}
DMS	1,87	0,16	0,15	0,04	3,79	2,69	0,29
CV (%)	18,69	19,85	5,69	21,79	7,43	4,83	9,54

^{ns} não significativa a 5% de probabilidade de erro, * Significativo a 5% de probabilidade de erro. Tratamento – Trat; desvio mínimo significativo – DMS; coeficiente de variação – CV; Comprimento de parte aérea – CPA; Comprimento de raiz; Diâmetro de colmo - DC; Massa seca total – MST; Horas após a semeadura – 28h e 56h; Índice de velocidade de germinação - IVG.

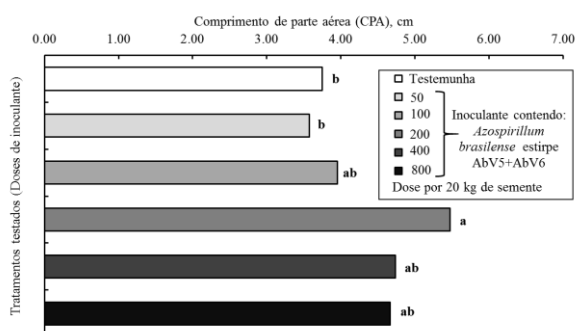


Figura 1. Comprimento de parte aérea de plântulas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*), 56 horas após inoculação das sementes com diferentes doses de *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5+AbV6.

Resultados semelhantes foram observados por Rampim et al. (2012) ao avaliar o desempenho da germinação de trigo em função da interação entre inoculadas com *A. brasilense* e reguladores de crescimento. Para Taiz e Zeiger (2010), pequenas concentrações de substâncias promotoras de crescimento podem alterar o balanço hormonal proporcionando respostas morfológicas em plantas.

Uma hipótese para o aumento evidenciado é a possível ação hormonal proporcionada pelas bactérias, estimulando ou produzido hormônios vegetais (Baldani & Baldani, 2005).

No entanto, este período não foi suficiente para promover alterações no comprimento do sistema radicular (CR); diâmetro do coleto (DC) e massa seca total (MST) (Figura 2 A; B; C respectivamente).

Ao analisar a germinação, nota-se ao final de 28 HAS, que comprimento de parte aérea (CPA), não havendo diferença entre os tratamentos para as demais variáveis.

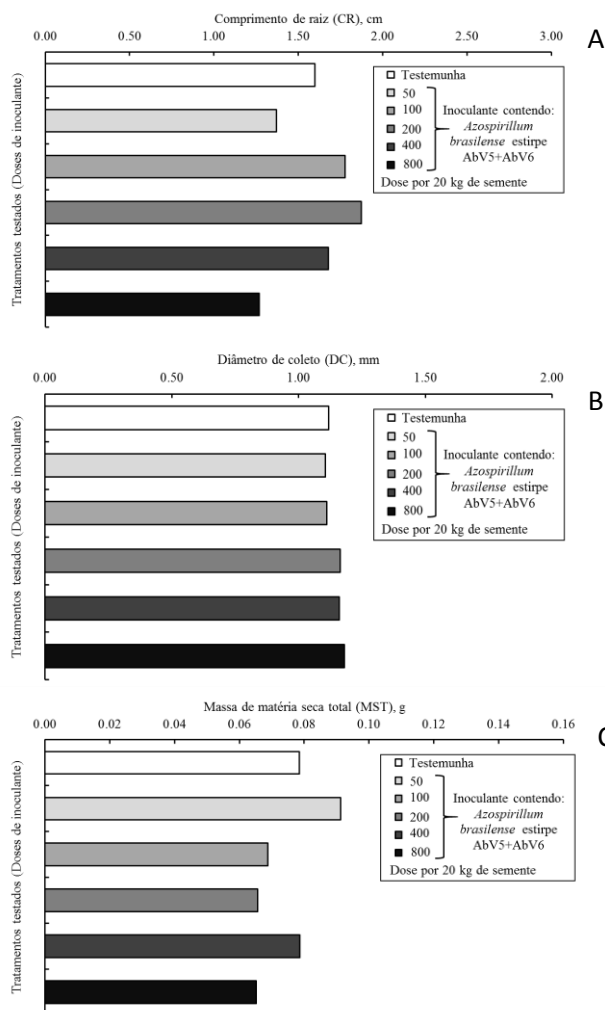


Figura 2. Plântulas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) ao final de 56 horas após inoculação das sementes com diferentes doses de *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5+AbV6. **A** - Comprimento de raiz (CR); **B** - Diâmetro de coleto (DC); **C** - Massa de matéria seca total (MST).

O CPA com dose de 200 mL foi superior a testemunha (0 mL) e dose de 50 mL, em 46 e 53%, respectivamente. Da mesma forma, ao final de 28 HAS foi verificado máxima germinação, tendo apresentado superioridade em de 19% ao inocular com 200 mL, ao comparar a dose de 50mL (Figura 3).

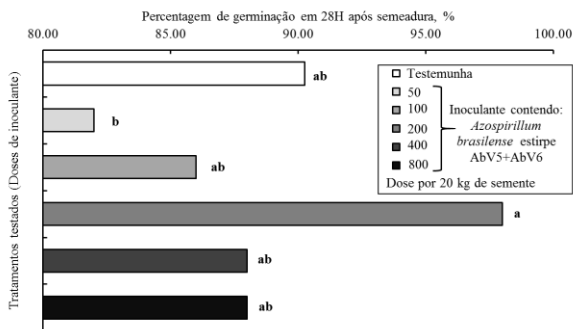


Figura 3. Percentagem de germinação de plântulas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) 28 horas após inoculação das sementes com doses de *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5+AbV6.

Por outro lado, ao final de 56 HAS a diferença entre as doses de inoculação não foi mais observada (**Figura 4**).

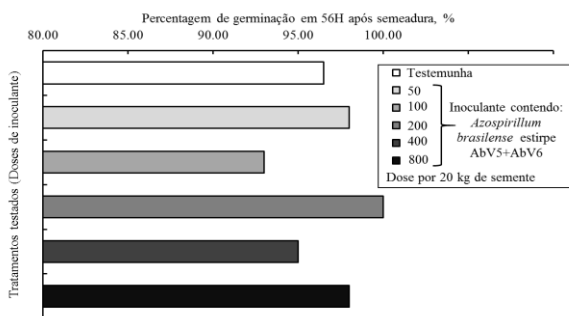


Figura 4. Percentagem de germinação de plântulas de nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) 56 horas após inoculação das sementes com doses de *Azospirillum brasilense* estirpe AbV5+AbV6.

CONCLUSÕES

Conclui-se que a concentração de 200 mL.20kg⁻¹ de *Azospirillum brasilense* em sementes de nabo forrageiro pode incrementar a germinação ao final de 28 horas após a sementeira (HAS). Da mesma forma, o período de 56 HAS é suficiente para demonstrar o aumento da parte aérea de plantas de nabo forrageiro para a mesma concentração.

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.

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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395p.

CRUSCIOL, C. A. C.; COTTICA, R. L.; LIMA, E. V.; ANDREOTTI, M.; MORO, E. & MARCON, E. Persistência de palhada e liberação de nutrientes do nabo-forrageiro no plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40: 161-168, 2005.

DERPSCH, R. & CALEGARA, I. Plantas para adubação verde de inverno. Iapar, Londrina. 80 p. (Circular 73). 1992.

DOBEREINER, J. Biological nitrogen fixation in tropics: Social and economic contribution. *Soil Biology & Biochemistry*, 29: 771-774, 1997.

DONEDA, A.; AITA, C.; GIACOMINI, S. J.; MIOLA, E. C. C.; GIACOMINI, D. A.; SCHIRMANN, J. & GONZATTO, R. Fitomassa e decomposição de resíduos de plantas de cobertura puras e consorciadas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36: 1714-1723, 2012.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35: 1039-1042, 2011.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. & ARAUJO, R. S. Soybean Seed Co-Inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A New Biotechnological Tool to Improve Yield and Sustainability. *American Journal of Plant Sciences*, 6: 811-817, 2015.

LÁZARO, R. L.; COSTA, A. C. T.; SILVA, K. F. S; SARTO, M. V. M. & DUARTE JÚNIOR, J. B. Produtividade de milho cultivado em sucessão à adubação verde. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 43: 10-17, 2013.

LIMA, J. D.; ALDRIGHI, M.; SAKAI, R. K.; SOLIMAN, E. P. & MORAES, W. S. Comportamento do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) e da nabiça (*Raphanus raphanistrum* L.) como adubo verde. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 37: 60-63, 2007.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, 2: 176-177, 1962.

SEBEN JUNIOR, G. F.; CORÁ, J. E. & LAL, R. Effect of cropping systems in no-till farming on the quality of a Brazilian Oxisol. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38: 1268-1280, 2014.

RAMPIM, L.; PERES RODRIGUES-COSTA, A. C. P.; NACKE, H.; KLEIN, J.; GUIMARÃES, V. F. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidos à inoculação e diferentes tratamentos. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, 34: 678 - 685, 2012.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Artmed, Porto Alegre, Brasil. 2013. 918p.