**Identificação de híbridos de milho responsivos a inoculação com bactérias promotoras de crescimento vegetal.**

Anderson Daniel Suss (PIBIC/CNPq/Unioeste), Vandeir Francisco Guimarães (Orientador), Roberto Cecatto Junior, e-mail: andersuss@hotmail.com

Universidade Estadual do Oeste do Paraná/ Centro de Ciências Agrárias/Agronomia Marechal Cândido Rondon/, PR.

Ciências Agrárias/Agronomia

**Palavras-chave:** *Azospirillum brasilense*,*Zeamays*, regulação hormonal, promoção de crescimento.

**Resumo**

Substâncias promotoras de crescimento vegetal provindas de origem biológica são comumente produzidas por bactérias promotoras de crescimento vegetal. Estas bactérias se consolidam na região rizosférica ou colonizam internamente o vegetal, resultando em benefícios biológicos e econômicos.Deste modo, o presente trabalho objetivou avaliar e identificar híbridos de milho responsivos à inoculação com *Azospirillum brasilense*. O experimento foi composto de esquema fatorial 9x2, sob delineamento inteiramente casualizado. O primeiro fator foi composto por 9 híbridos de milho, e segundo fator responde pelo Controle e Inoculação com *A. brasilense*. Foram avaliados índice de velocidade de emergência, índice SPAD, diâmetro do caule, comprimento de parte aérea, comprimento total evolume de raiz. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.Baseado nos resultados, o hibrido Status é responsivo a prática da inoculação com *A. brasilense,*apresentando resposta positiva aos parâmetros avaliados com exceção de matéria seca da parte aérea e robustez. A inoculação também influenciou positivamente o hibrido P 3161H,incrementando comprimento da parte aérea, comprimento total, diâmetro de coleto e índice SPAD. Para o IVE, segunda contagem, comprimento da parte aérea, comprimento total, diâmetro de coleto e índice SPAD,o hibrido P 3456 H apresentou boa resposta quando inoculado.Os híbridos Status,P 3161H e P3456H apresentaram resultados promissores para a prática da inoculação com *A. brasilense*.

**Introdução**

O milho (*Zeamays* L.) é um cereal cultivado em todos os continentes, apresentando elevada relevância econômica devido à amplitude de formas de utilização.Impulsionando os mais recentes incrementos em produtividade, destacam-se as substâncias promotoras de crescimento vegetal. Essas substâncias vêm sendo largamente utilizadas na agricultura moderna, podendo advir de origem biológica ou química (Busato *et al*., 2010).

Estas substâncias promotoras, quando de origem biológica, comumente são produzidas por bactérias classificadas como promotoras de crescimento vegetal. Desde a década de 1970 estuda-se a ampla distribuição do gênero*Azospirillum*, sendo de ocorrência natural, presente junto à culturas forrageiras e cereais Dobereiner *et al*., (1976).O resultado desta interação é a maior capacidade de absorção de água e nutrientes devido ao estímulo hormonal (Pedraza, 2008), resultando em benefícios ao crescimento vegetal.

Quadros *et al*., (2014) denota que a atividade das bactérias é bem elucidada, porém, levanta a questão da necessidade de estudos que identifiquem híbridos de milho com boa resposta agronômica à inoculação com espécies e estirpes bacterianas promotoras de crescimento vegetal. Diante disto o presente trabalho objetiva identificar hibridos de milho responsivos a inoculação com *A. brasilense*.

**Material e Métodos**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fisiologia Vegetal, pertencente a Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon, Paraná. O ensaio foi composto de esquema fatorial 9 x 2 sob delineamento inteiramente casualizado, sendo o primeiro fator composto por 9 híbridos de milho e segundo pelos tratamentos referentes a inoculação com *A. brasilense* estirpes AbV5 + AbV6, sendo: Controle (sem inoculação) e Inoculação (100 mL por 60.000 sementes). O processo de inoculação foi efetuado em cama de fluxo horizontal continuo por agitação em sacos de polietileno.

Foram semeadas 25 sementes em bandejas de polietileno, com quatro repetições por tratamento. Utilizou-se areia esterilizada em autoclave durante 20 minutos à 121+ °C como substrato. As bandejas foram alocadas em câmara de germinação tipo BOD a 25 ± 1 °C, com fotoperiodo12:12, e diariamente umedecidas com água até restabelecerema capacidade de campo. As plântulas emergidas foram contabilizadas diariamente durante sete dias, para determinação do índice de velocidade de emergência (IVE) através da adaptação de cálculo para índice de velocidade de germinação Maguire (1962).

Ao fim de sete dias, com auxílio do medidor digital SPAD-502-Plus foi definido o índice SPAD, com base na amostragem de 5 plântulas por parcela, obtida a partir da média aritmética de três medições por planta, em folhas totalmente expandidas.

As mesmas plantas foram selecionadas para determinação de características morfométricas, mensurando o comprimento da parte aérea e o comprimento total com auxílio de régua graduada. O diâmetro do caule foi medido com paquímetro digital. Foi determinado volume do sistema de radicular pela técnica de deslocamento da coluna de água na proveta, com base na diferença de volume de água antes e após a completa imersão das raízes.

Os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, e, em seguida, submetidos a análise de variância com auxílio do software Sisvar 5.1 build 72 Ferreira (2011), e no caso do efeito significativo a 95% de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**Resultados e Discussão**

Na Tabela1 encontram-se os resultados da análise de variância baseada nos quadrados médios para índice de velocidade de emergência, comprimento parte aérea, comprimento total, diâmetro de coleto, volume de raiz e índice SPAD.

**Tabela 1**. Resumo da análise de variância baseado nos quadrados médios para Índice (IVE), comprimento parte aérea (cm),comprimento total (cm), diâmetro de coleto (mm), volume raiz (mm³), índice SPAD.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Fonte Variação | Cultivar | Inoculação | Interação | Erro | Média | CV (%) |
| Índice Velocidade Emergência | 14,8406\*\* | 1,4249 | 1,8157\*\* | 0,4889 | 3,394 | 20,60 |
| Comprimento Parte Aérea | 69,4479\*\* | 39,3384 | 10,0204\*\* | 1,3001 | 11,641 | 9,80 |
| Comprimento Total | 251,0218\*\* | 134,3160 | 53,5633\*\* | 17,9124 | 32,601 | 12,98 |
| Diâmetro Coleto | 0,4035\*\* | 0,7917 | 0,0399\*\* | 0,0130 | 2,240 | 5,09 |
| Volume Raiz | 0,3263\*\* | 0,0118 | 0,0569\* | 0,0230 | 0,580 | 26,16 |
| Índice SPAD | 1394,168\*\* | 435,6660 | 203,857\*\* | 20,7331 | 26,692 | 17,06 |

Diferença significativa a \*5 % de probabilidade erro e \*\*1% de probabilidade de erro pela ANAVA.

Quantos aos parâmetros avaliados índice de velocidade de emergência(IVE), índice SPAD e diâmetro de coleto (DC), foram visualizados efeitos da inoculação nos tratamentos (Tabela 2).

**Tabela 2.**Índice de velocidade de emergência(IVE), índice SPAD e diâmetro de coleto (DC) de milho inoculado com *A. brasilense.*

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Cultivar | IVE | | | | Índice SPAD | | | | Diâmetro Coleto (mm) | | | |
| Controle | | Inoculado | | Controle | | Inoculado | | Controle | | Inoculado | |
| STATUS | 2,397 | b | 4,232 | a | 19,023 | b | 43,213 | a | 2,190 | b | 2,453 | a |
| P 3340 | 2,372 | a | 1,307 | b | 10,358 | a | 8,843 | a | 1,788 | a | 1,878 | a |
| NS 50 | 4,844 | a | 4,463 | a | 33,695 | a | 24,255 | b | 2,090 | a | 2,210 | a |
| 2B810 | 3,565 | a | 3,100 | a | 48,078 | a | 47,148 | a | 2,090 | b | 2,255 | a |
| SUPREMA | 4,187 | b | 5,236 | a | 38,465 | a | 42,455 | a | 2,368 | a | 2,388 | a |
| P 3161 H | 0,513 | a | 1,343 | a | 3,618 | b | 11,370 | a | 2,008 | b | 2,155 | a |
| P 30F53 YH | 2,991 | a | 2,842 | a | 21,983 | a | 18,950 | a | 2,180 | b | 2,418 | a |
| P 3456 H | 4,019 | b | 5,136 | a | 26,095 | b | 37,575 | a | 2,428 | b | 2,875 | a |
| P 4285YH | 4,392 | a | 4,157 | a | 16,773 | b | 28,555 | a | 2,080 | b | 2,478 | a |

Médias acompanhadas de letras distintas entre colunas indicam diferença s 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.

As cultivares Status, Supremo e P 3456 H apresentaram IVE maior quando inoculadas. Contudo, a cultivar P3340 YH apresentou comportamento inverso.Em relação ao índice SPAD, as cultivares Status, P 3161 H, P 3456 YH e P 4285 YH foram superiores,no entanto, o NS 50 teve índice menor quando inoculado com *A. brasilense*.Jordão *et al*. (2010) observaram um efeito positivo em sementes inoculadas com *A.brasilense*, sendo que a média da leitura do índice SPAD nos tratamentos inoculados foram superiores a testemunha, comprovando a eficiência dessa bactéria no incremento do aparato fotossintético.

As cultivares Status, 2B810, P 3161 YH, P 30F53 YH, P 3456 YH e P 4285 YH apresentaram diâmetro de coleto superior quando inoculados.

Para comprimento da parte aérea (CPA), comprimento total (CT) e volume de raiz (VR)foi constatada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 3).

**Tabela 3.** Comprimento da parte aérea (CPA), comprimento total (CT) e volume de raiz (VR)de milho submetido a inoculação.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Cultivar | Comprimento Parte Aérea (mm) | | | | Comprimento Total (mm) | | | | Volume Raiz (mm3) | | | |
| Controle | | Inoculado | | Controle | | Inoculado | | Controle | | Inoculado | |
| STATUS | 9,750 | b | 14,560 | a | 29,388 | b | 40,170 | a | 0,475 | b | 0,900 | a |
| P 3340 | 9,370 | a | 7,818 | a | 28,205 | a | 23,250 | a | 0,300 | a | 0,263 | a |
| NS 50 | 13,935 | a | 14,430 | a | 34,255 | a | 36,808 | a | 0,500 | a | 0,400 | a |
| 2B810 | 15,260 | a | 16,210 | a | 39,460 | a | 38,213 | a | 0,800 | a | 0,850 | a |
| SUPREMA | 14,200 | a | 15,480 | a | 38,435 | a | 42,210 | a | 0,950 | a | 0,900 | a |
| P 3161 H | 4,658 | b | 9,503 | a | 21,125 | b | 28,000 | a | 0,583 | a | 0,513 | a |
| P 30F53 YH | 9,580 | a | 9,188 | a | 28,420 | a | 26,508 | a | 0,500 | a | 0,363 | a |
| P 3456 H | 10,465 | b | 13,255 | a | 29,475 | b | 37,665 | a | 0,550 | a | 0,600 | a |
| P 4285YH | 10,895 | a | 10,975 | a | 32,350 | a | 32,875 | a | 0,450 | a | 0,550 | a |

Médias acompanhadas de letras distintas entre colunas indicam diferença s 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.

Para os parâmetros comprimento de parte aérea e comprimento total os híbridos Status, P 3161 H e P 3456 H apresentaram resultados superiores frente ao controle, quando submetidos a inoculação.Para volume de raiz apenas Status apresentou ganho significativo com a inoculação.

Bactérias do gênero *Azospirillum*produzem e excretam substâncias promotoras de crescimento com atividade reguladora, como auxinas, giberelinas e citocininas que auxiliam no desenvolvimento da planta, favorecendo a nutrição mineral e absorção de água pelas plantas(Neto *et al*., 2013), embasando os resultados positivos encontrados nosparâmetrosmorfométricos avaliados.

**Conclusões**

Os híbridos Status, P 3161H e P3456H são genótipos responsivosa inoculação, apresentando incrementos nos processos de emergência, desenvolvimento inicial e síntese de pigmentos fotossintetizantes quando associados com *Azospirillum brasilense*.

**Agradecimentos**

Ao CNPq pela bolsa produtividade concedida.

**Referências:**

Busato, J. G., Zandonadi, D. B., Dobbss, L. B., Façanha, A. R., Canellas, L. P. (2010).Humic substances isolated from residues of sugar cane industry as root growth promoter. *Scientia Agricola*, **67,** 206–212.

Dobereiner, J., Marriel, I. E., Nery, M. (1976). Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Canadian Journal of Microbiology*, **22**, 1464–1473.

Ferreira, D. F. (2011) SISVAR : A computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, **35**, 1039–1042.

Jordão, L. T., Lima, F. F., Lima, R. S.(2010). Teor relativo de clorofila em folhas de milho inoculado com Azospirillum braziliense sob diferentes doses de nitrogênio e manejo com braquiária. Fertbio. *Anais...*,4.

Maguire, J. D.(1963). Speed of Germination—Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor1. *Crop Science*, **2**, 176.

Neto, F. J. D., Yashimi, F. K., Garcia, R. D., Miyamoto, Y. R.; Domingues, M. C. S. (2013).Desenvolvimento e produtividade do milho verde safrinha em resposta à aplicação foliar com *Azospirillum brasilense*. *Enciclopédia Biosfera*, **9**, 1030–1040.

Pedraza, R. O.(2008) Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **125**, 25–35.

Quadros, P. D. DE., Roesch, L. F. W., Silva, P. R. F. DA; et al.(2014). Desempenho agronômico a campo de híbridos de milho inoculados com *Azospirillum*. *Revista Ceres*, **61**, 209–218.