

## QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO SUBMETIDO À BIOESTIMULANTE E INOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

Marcos Vinicius Mansano Sarto<sup>1</sup>, Adriano Mitio Inagaki<sup>1</sup>, Marla Sílvia Diamante<sup>1</sup>, Graciela Maiara Dalastra<sup>1</sup>, Fabiane Cristina Gusatto<sup>2</sup>, Vandair Francisco Guimarães<sup>3</sup>, Leandro Rampim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestrando do Programa em Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, campus Marechal Cândido Rondon, Rua Pernambuco, 1.777, Caixa Postal 1.008, Centro, 85.960-000, Marechal Cândido Rondon, PR; E-mail: marcos\_\_sarto@hotmail.com; mitioinagaki@gmail.com; marladiamante@hotmail.com; gradalastra@hotmail.com;

<sup>2</sup>Doutorando do Programa em Pós-graduação em Agronomia, Unioeste; E-mail: rampimleandro@yahoo.com.br; fabicristina12@hotmail.com

<sup>3</sup>Dr., Professor Associado do Centro de Ciências Agrárias, Unioeste; E-mail: vandairfg@yahoo.com.br

**RESUMO:** *Objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho submetidas aos tratamentos com Azospirillum brasilenses, Herbaspirillum seropedicae e Stimulate<sup>®</sup>. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial 2x8, sendo dois híbridos de milho e oito tratamentos de sementes. Os híbridos utilizados foram 30F53H e 30A91HX, e os tratamentos foram obtidos da combinação entre: 0,25 mL/100 sementes de Stimulate<sup>®</sup> (S), Azospirillum brasilenses (A) e Herbaspirillum seropedicae Sm-R1 (H) na concentração de  $2,0 \times 10^7$  células viáveis mL<sup>-1</sup>, organizados da seguinte forma: Testemunha, S, A, H, S+A, S+H, A+H e S+A+H. Foi realizado as avaliações de: Índice velocidade germinação (IVG), comprimento da parte aérea (PA), comprimento da raiz (CR), número raiz (NR), diâmetro hipocótilo (DH), massa seca parte aérea (MSPA), massa seca raiz (MSR), porcentagem germinação (GER) e volume raiz (VOLR). O genótipo 30A91HX proporciona resultados superiores para a maioria das características avaliadas. A associação entre Stimulate<sup>®</sup> e Herbaspirillum seropedicae incrementa diâmetro de hipocótilo, volume de raiz e massa seca parte aérea e massa seca de raiz.*

**PALAVRAS-CHAVE:** *Zea mays (L.), Regulador vegetal, germinação, Azospirillum brasilenses, Herbaspirillum seropedicae.*

## SEED QUALITY OF MAIZE SUBJECTED TO PLANT GROWTH REGULATOR AND INOCULATION WITH DIAZOTROPHS

**ABSTRACT:** *This study aimed to evaluate the physiological quality of maize seeds subjected to treatments with Azospirillum brasilenses, Herbaspirillum seropedicae and Stimulate<sup>®</sup>. The experimental design was completely randomized, with four replications, 2x8 factorial, two corn-eight seed treatments. The hybrids were used 30F53H and 30A91HX and the treatments were the combination of: 0.25 ml/100 Stimulate<sup>®</sup> seed (S), Azospirillum brasilenses (A) and Herbaspirillum seropedicae Sm-R1 (H) at a concentration of  $2.0 \times 10^7$  viable cells mL<sup>-1</sup> organized as follows: Control, S, A, H, S + F, S + H A + H A + and S + H Was reviews of: germination speed index (GSI), shoot length (PA), root length (RL), root number (NR), hypocotyl diameter (DH), dry mass (MSPA), dry root (MSR), percentage germination (GER) and root volume (VOLR). Genotype 30A91HX superior results for most traits. The association between Stimulate<sup>®</sup> and Herbaspirillum seropedicae increases hypocotyl diameter, root volume and dry shoot and root dry weight.*

**KEY WORDS:** *Regulator plant, Zea mays (L.) germination, Azospirillum brasilenses, Herbaspirillum seropedicae.*

## INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays L.*) caracteriza-se pelo elevado potencial produtivo, sendo cultivado em praticamente todo o território brasileiro. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2013), no ano agrícola de 2012/2013 a produção deste cereal atingiu 80,3 milhões de toneladas, sendo o estado do Paraná um dos maiores produtores, responsável por 18 milhões de toneladas.

Apesar de o Brasil ser um dos maiores produtores mundiais de milho, a produtividade brasileira ( $4650 \text{ kg ha}^{-1}$ ), é baixa quando comparada a outros países, como os EUA ( $9920 \text{ kg ha}^{-1}$ ) USDA (2012). As formas para aumentar a produtividade desta cultura estão aliadas aos avanços científicos e à disponibilização de tecnologias no setor produtivo. Um desses avanços é o uso de reguladores vegetais e/ou bioestimulantes (Dobbelaere et al., 2001; Bashan et al., 2004) e bactérias diazotróficas.

O termo bioestimulante se refere à mistura de reguladores vegetais, ou de um ou mais reguladores vegetais com outros compostos de natureza bioquímica diferente (aminoácidos, nutrientes, vitaminas). O emprego de reguladores vegetais como técnica agrônômica para otimizar a produção em diversas culturas tem crescido nos últimos anos (Castro e Vieira, 2001).

Diversos trabalhos têm sido realizados para verificar o papel dos biorreguladores vegetais, os quais têm apresentado resultados controversos, onde alguns autores obtiveram resultados positivos no incremento em produtividade das culturas (Braccini et al., 2005; Klahold et al., 2006) e outros autores não obtiveram respostas (Ferreira et al., 2007; Castro et al., 2008).

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas, devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (Davison, 1988; Kloepper et al., 1989).

Essas bactérias podem estimular o crescimento das plantas por diversas maneiras, sendo as mais relevantes: capacidade de fixação biológica de nitrogênio (Huergo et al., 2008); aumento na atividade da redutase do nitrato quando crescem endofiticamente nas plantas (Cassán et al., 2008); produção de hormônios como auxinas, citocininas (Tien et al., 1979), giberilinas (Bottini et al., 1989), etileno (Strzelczyk et al., 1994) e uma variedade de outras moléculas (Perrig et al., 2007) e solubilização de fosfato (Rodriguez et al., 2004).

O maior desenvolvimento das raízes pela inoculação com *Azospirillum* pode implicar em outros efeitos. Já foram relatados incrementos na absorção da água e minerais, maior tolerância aos estresses salino e a seca, resultando em uma planta mais vigorosa e produtiva (Bashan & Holguin, 1997; Dobbelaere et al., 2001; Bashan et al., 2004), provavelmente pelo crescimento radicular e auxílio na nutrição das plantas. Também há vários relatos de tolerância a agentes patogênicos (Correa et al., 2008). Rodrigues et al. (2000) verificaram que a inoculação de *Azospirillum* sp. em culturas anuais incrementou o teor de nitrogênio nos grãos colhidos, assim como alteração na morfologia de raízes e no desenvolvimento das plantas.

Segundo Farooq et al. (2006), plântulas vigorosas podem competir mais eficientemente, principalmente em condições de estresse por luz, nutrientes e água, influenciando no estabelecimento da população e na produtividade de grãos. Assim, 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.

Diante do exposto sobre bioestimulante e bactérias diazotróficas no desenvolvimento inicial de plântulas de milho, objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho submetidas aos tratamentos com *Azospirillum brasilenses*, *Herbaspirillum seropedicae* e ao Stimulate®.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Tecnologia de Sementes e Mudanças da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Marechal Cândido Rondon – PR, no mês de novembro de 2012.

Para tanto, utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x8, com dois híbridos de milho e oito tratamentos de sementes, totalizando 16 tratamentos com quatro repetições de 100 sementes. Os híbridos de milho utilizados foram 30F53H e 30A91HX e os oito tratamentos foram obtidos da combinação entre os três diferentes substâncias, sendo estas a base de Stimulate® (90 mg.L<sup>-1</sup> de cinetina + 50 mg.L<sup>-1</sup> de ácido giberélico + 50 mg.L<sup>-1</sup> de ácido indolbutírico) (S), estirpes Ab-V5 de *Azospirillum brasilense* (A) e *Herbaspirillum Seropedicae* (H), organizados da seguinte forma: Testemunha, S, A, H, S+A, S+H, A+H e S+A+H.

As estirpes foram obtidas pelo laboratório de Bioquímica e Biologia molecular da UFPR de Curitiba. Tendo a solução 10<sup>7</sup> unidades formadoras de colônias mL<sup>-1</sup> (UFC mL<sup>-1</sup>).

O tratamento das sementes foi realizado por meio de homogeneização em sacos de polietileno. A avaliação ocorreu através do teste de germinação realizado conforme especificações das Regras de Análise de Sementes (Brasil, 2009). Foram semeadas 100 sementes, divididas em quatro repetições, em papel germitest umedecido com quantidade de água destilada equivalente a duas vezes e meia a sua massa e colocadas para germinar em câmara de germinação à temperatura de  $25 \pm 2$  °C.

Também foi determinado o teor de água das sementes, na qual se utilizou o método de estufa a  $105 \pm 2$  °C por 24 horas, com quatro repetições de 10 sementes; os resultados foram expressos em porcentagem. (Brasil, 2009). O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado simultaneamente ao teste de germinação (GER), utilizando metodologia descrita por Maguire (1962).

Foram realizadas avaliações do quarto ao sétimo dia após a semeadura, sendo consideradas germinadas as plântulas que apresentaram sistema radicular e parte aérea normal, sendo que os resultados foram expressos em porcentagem.

Para as avaliações de comprimento de parte aérea (PA), comprimento de raiz (CR), diâmetro do hipocótilo (DH), massa de matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR), número de raízes (NR) e volume de raízes (VOLR), foram realizados ao sétimo dia após a semeadura. Foi mensurado dez plântulas por repetição, selecionadas ao acaso entre as plântulas consideradas normais (Garcia Junior et al., 2008), sendo o comprimento de parte aérea e raiz, e o diâmetro do hipocótilo expresso em cm e mm plântula<sup>-1</sup>, respectivamente. O número de raízes foi determinado por meio da contagem do número de raízes de dez plântulas selecionadas para os testes anteriores.

A massa da matéria seca da parte aérea e raízes foram avaliadas pela determinação da massa das mesmas dez plântulas, sendo que o material vegetal foi levado à estufa e desidratado a  $65 \pm 2$  °C até atingir massa constante. O valor de massa da matéria seca de parte aérea e de raízes foi obtido pela divisão da massa total pelo número de plântulas utilizadas no teste e os resultados foram expressos em g plântula<sup>-1</sup>. A razão raiz/parte aérea (R/PA) foi obtida pela divisão do comprimento de raiz pelo comprimento de parte aérea.

Para a determinação do volume das raízes, estas foram cortadas e reunidas em feixes, em seguida mergulhadas em uma proveta com capacidade de 100 ml. A proveta foi preenchida com 29 ml de água destilada e 1 ml de álcool 70%, totalizando 30 ml. O volume de água deslocado (mL) corresponde ao volume das raízes.

A análise estatística dos resultados obtidos foi realizada com o auxílio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000), de modo que os dados foram submetidos à análise de

variância e, no caso de efeito significativo, utilizou-se o teste Tukey a 5% de probabilidade para diferenciação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar na Tabela 1, onde é apresentado o resumo da análise de variância, que houve efeito significativo na interação entre os híbridos e os tratamentos de sementes com *Azospirillum brasilenses*, *Herbaspirillum seropedicae* e Stimulate® para as características: diâmetro de hipocótilo (DH), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e volume de raiz (VOLR). Para as demais variáveis não foi observada interação, portanto os fatores foram analisados individualmente.

Com relação aos híbridos, houve efeito significativo para as variáveis: comprimento de parte aérea (PA), comprimento de raiz (CR), número de raízes (NR) e porcentagem de germinação (GER). Para o fator tratamentos de sementes com *Azospirillum brasilenses*, *Herbaspirillum seropedicae* e Stimulate® houve efeito significativo para comprimento de raiz (CR) e número de raízes (NR) (Tabela 1). Verifica-se que para a variável índice de velocidade de germinação (IVG) não foi observado efeito significativo tanto dos diferentes híbridos de milho quanto nos tratamentos de sementes avaliados.

**Tabela 1.** Resumo das análises de variâncias para efeito de diferentes tratamentos de semente com *Azospirillum brasilenses*, *Herbaspirillum seropedicae* e Stimulate® e os híbridos de milho 30F53H e 30A91HX

FV	GL	Quadrados Médios								
		IVG	PA	CR	NR	DH	MSPA	MSR	GER	VOLR
(H)	1	0,595 <sup>ns</sup>	3,455 <sup>**</sup>	138,68 <sup>**</sup>	15,98 <sup>**</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	0,001 <sup>**</sup>	20,25 <sup>**</sup>	0,069 <sup>**</sup>
(T)	7	0,232 <sup>ns</sup>	0,279 <sup>ns</sup>	12,61 <sup>*</sup>	11,09 <sup>**</sup>	0,77 <sup>**</sup>	0,00 <sup>**</sup>	0,00 <sup>**</sup>	3,39 <sup>ns</sup>	0,022 <sup>**</sup>
(T) x (H)	7	0,245 <sup>ns</sup>	0,701 <sup>ns</sup>	1,41 <sup>ns</sup>	2,18 <sup>ns</sup>	0,31 <sup>**</sup>	0,00 <sup>**</sup>	0,00 <sup>*</sup>	4,25 <sup>ns</sup>	0,015 <sup>**</sup>
RESÍDUO	48	0,218	0,348	4,89	2,04	0,10	0,00	0,00	2,58	0,003
CV (%)		7,5	11,93	27,65	18,73	11,49	7,97	12,82	1,62	21,1
Média		6,220	4,940	7,990	7,630	2,710	0,025	0,033	99,190	0,267

FV = Fonte de variação; H = Híbrido; T = Tratamentos de semente; IVG = Índice de velocidade de emergência; PA = Comprimento de parte aérea; CR = Comprimento de raiz; NR = Número de raiz; DH = Diâmetro de hipocótilo; MSPA = Massa seca parte aérea; MSR = Massa seca raiz; GER = Germinação; VOLR = Volume de raiz.

<sup>ns</sup> não significativo; \* significativo à 5%; \*\* significativo à 1% de probabilidade estatística, pelo teste F.

Os resultados apresentados na tabela 2 mostram que houve diferença entre os híbridos de milho para a germinação de sementes (GER), sendo que o híbrido 30A91HX obteve germinação superior ao híbrido 30F53H, com valores de 99,75% e 98,62%, respectivamente.

Martinelli-Seneme, Martins e Nakagawa (2000) ao avaliarem germinação de milho em função do tamanho da semente e do potencial hídrico, encontraram valores em torno de 86,5%. Esta diferença pode ocorrer devido à capacidade de germinação de um lote de sementes serem determinada pela proporção daquelas que podem produzir plântulas normais, sob condições favoráveis (Carvalho e Nakagawa, 2000). Quanto ao comprimento de parte aérea, o híbrido 30F53H apresentou valor superior ao híbrido 30A91HX, com valores de 5,17 cm e 4,71 cm, respectivamente, evidenciando que pode estar relacionado a fatores genéticos.

**Tabela 2.** Efeito dos híbridos de milho 30F53H e 30A91HX no comprimento da parte aérea (PA) e germinação (GER) de plântulas de milho independentemente dos tratamentos de semente com *Azospirillum brasilenses*, *Herbaspirillum seropedicae* e Stimulate®

HÍBRIDO	PA (cm)	GER (%)
30A91HX	4,71 B	99,75 A
30F53H	5,17 A	98,62 B
Média	4,94	99,19

PA = Comprimento parte aérea; GER = Porcentagem de germinação.

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Ao avaliar o diâmetro de hipocótilo (DH), para o híbrido 30A91HX, o tratamento S+A+H (Stimulate® + *Azospirillum brasilense* + *Herbaspirillum seropedicae*) proporcionou valor de 3,08 mm, sendo superior ao tratamento testemunha e o S+H (Stimulate® + *Herbaspirillum seropedicae*) com médias de 2,26 mm e 2,22 mm, respectivamente. No entanto, para o híbrido 30F53H, o tratamento H (*Herbaspirillum seropedicae*) foi o que proporcionou maior diâmetro, com 3,26 mm, enquanto que o S+A+H apresentou o menor valor (2,30 mm), não diferindo do S+H (2,31 mm). O híbrido 30F53H apresentou diâmetro de hipocótilo (3,26 mm) superior ao 30A91HX (2,77 mm) para o tratamento H (*Herbaspirillum seropedicae*), porém na associação de *Herbaspirillum seropedicae* com Stimulate® e *Azospirillum brasilense* (S+A+H), o híbrido 30A91HX obteve resposta superior (3,08 mm) ao 30A91HX (2,30 mm) (Tabela 3).

Em relação à massa seca da parte aérea (MSPA), para o híbrido 30A91HX submetido ao tratamento A (*Azospirillum brasilense*) apresentou valor inferior (0,0227 g plântulas<sup>-1</sup>) quando comparado à associação dos três bioestimulantes (S+A+H) (0,0283 g plântulas<sup>-1</sup>). O genótipo 30F53H inoculado com o tratamento A também apresentou valor inferior, não diferindo de S+A (Stimulate® e *Azospirillum brasilense*), quando comparado ao tratamento A+H (*Azospirillum brasilense* + *Herbaspirillum seropedicae*) que proporcionou valor superior (0,0303 g plântulas<sup>-1</sup>). A inoculação da bactéria diazotrófica *Herbaspirillum*

*seropedicae* (H) resultou em acúmulo superior de massa seca de parte aérea (0,0267 g plântulas<sup>-1</sup>) para o híbrido 30A91HX, porém quando as duas bactérias diazotróficas foram inoculadas (A+H), o mesmo híbrido apresentou desempenho inferior (0,0303 g plântulas<sup>-1</sup>) quanto a MSPA para o híbrido 30F53H (Tabela 3).

**Tabela 3.** Efeito dos tratamentos de semente com *Azospirillum brasilenses*, *Herbaspirillum seropedicae* e Stimulate<sup>®</sup> no diâmetro de hipocótilo (DH), volume de raiz (VOLR) e massa seca parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) para os híbridos de milho 30F53H e 30A91HX

Trat.	DH (mm)		MSPA (g plântulas <sup>-1</sup> )		MSR (g plântulas <sup>-1</sup> )		VOLR (mL plântulas <sup>-1</sup> )	
	30A91HX	30F53H	30A91HX	30F53H	30A91HX	30F53H	30A91HX	30F53H
S	2,8 ABa	3,2 ABa	0,025ABCa	0,023 CDa	0,044ABa	0,03 BCa	0,375 ABa	0,225ABb
A	2,8 ABa	3,0 ABCa	0,023 Ca	0,020 Da	0,04ABCa	0,032ABb	0,350ABCa	0,300 Aa
H	2,8 ABb	3,3 Aa	0,027ABCa	0,023 CDb	0,034CDa	0,035ABa	0,225 Ca	0,300 Aa
S+A	2,9 ABa	3,100 ABa	0,023 BCa	0,021 Da	0,049 Aa	0,040 Aa	0,400 Aa	0,275 Ab
S+H	2,2 Ba	2,310 Da	0,024ABCa	0,024BCDa	0,03BCDa	0,030BCa	0,250 BCa	0,275 Aa
A+H	2,5 ABa	2,370 CDa	0,024 BCb	0,030 Aa	0,031 Da	0,019 Db	0,250 BCa	0,225ABa
S+A+H	3,1 Aa	2,300 Db	0,028 Aa	0,029 Aba	0,031 Da	0,023 Db	0,250 BCa	0,100 Bb
Controle	2,3 Ba	2,540 BCDa	0,027 ABa	0,026 BCa	0,032CDa	0,022CDb	0,300ABCa	0,175ABa

Trat. = Tratamentos de semente; S = Stimulate<sup>®</sup>; A = *Azospirillum brasilense*; H = *Herbaspirillum seropedicae*; S+A = Stimulate<sup>®</sup> + *Azospirillum brasilense*; S+H = Stimulate<sup>®</sup> + *Herbaspirillum seropedicae*; A+H = *Azospirillum brasilense* + *Herbaspirillum seropedicae*; S+A+H = Stimulate<sup>®</sup> + *Azospirillum brasilense* + *Herbaspirillum seropedicae*; DH = Diâmetro de hipocótilo; MSPA = Massa seca parte aérea; MSR = Massa seca raiz; VOLR = Volume de raiz.

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna, minúscula na linha, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Para o acúmulo de massa seca da raiz (MSR), os dois híbridos, 30A91HX e 30H53H, acumularam 0,0490 e 0,0400 g planta<sup>-1</sup>, respectivamente, com a combinação de bioestimulantes S+A, sendo superiores aos demais tratamentos de semente. Na avaliação dos tratamentos de sementes para cada híbrido, de maneira geral, o híbrido 30A91HX proporcionou MSR superior ao 30F53H para os tratamentos testemunha, A, A+H e S+A+H (Tabela 3).

A inoculação de bactérias diazotróficas estimula o aumento de matéria seca, provavelmente pela produção de substâncias promotoras de crescimentos, entre elas auxinas, giberilinas e citocininas, e não somente a fixação biológica de nitrogênio (Cavallet et al., 2000). Porém, Conceição et al. (2008) observou que a adição de ácido húmico, inoculação de *Herbaspirillum seropedicae* não estimularam significativamente o aumento da massa de matéria seca de raiz e da parte aérea. Contrariando os resultados obtidos no presente estudo, onde as associações de A+H, S+H e A+S+H promoveram acúmulo de MSPA superior para os dois híbridos avaliados. Enquanto que para o tratamento S+A resultou em MSR superior tanto para o híbrido 30A91HX quanto para o 30F53H.

Para o volume de raiz (VOLR), o híbrido 30A91HX resultou em valores superiores com os tratamentos de semente S (Stimulate<sup>®</sup>), S+A e S+A+H, com volume de 0,375, 0,400 e 0,250 mL plântulas<sup>-1</sup>, respectivamente. Também foi observado para o híbrido 30A91HX, que o tratamento S+A proporcionou VOLR superior (0,400 mL plântulas<sup>-1</sup>) ao tratamento H (0,225 mL plântulas<sup>-1</sup>). Entretanto para o genótipo 30F53H o tratamento H foi que proporcionou VOLR superior ao tratamento S+A+H (Tabela 3). Esses efeitos positivos podem ser proporcionados pelas bactérias que alteram principalmente a morfologia e fisiologia das raízes das plantas inoculadas acarretando aumento na absorção de água e nutrientes (Okon e Vanderleyden, 1997).

Quanto ao efeito dos tratamentos de sementes no comprimento e número de raiz (CR e NR), para ambas as variáveis o híbrido 30A91HX foi superior ao 30F53H. Entretanto na avaliação dos tratamentos de sementes para a característica CR, com o Stimulate<sup>®</sup> (S) obteve valor superior (10,27 cm) a testemunha (6,54 cm) e ao A+H (6,51 cm), os quais proporcionaram resultados de CR semelhantes. Kappes et al., (2010) estudando a germinação, vigor de sementes e crescimento de plântulas de milho sob condições de déficit, observaram comprimento de raiz variando de 16,93 a 17,67 cm nos híbridos avaliados, sendo estes valores superiores aos encontrados no presente estudo.

Para o NR, o tratamento se sementes H proporcionou valor superior (9,01 cm) a testemunha e ao A+H, S+A+H, porém não diferiu de S+A (8,82 cm) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Efeito dos tratamentos de semente com *Azospirillum brasilenses*, *Herbaspirillum seropedicae* e Stimulate<sup>®</sup> no comprimento de raiz (CR) e número de raiz (NR) para os híbridos de milho 30F53H e 30A91HX

Trat.	CR (cm)		Média	NR		Média
	30A91HX	30F53H		30A91HX	30F53H	
S	12,22	8,32	10,27 a	9,06	7,52	8,29 ab
A	9,47	7,19	8,33 ab	8,87	7,8	8,34 ab
H	9,99	6,2	8,09 ab	9,97	8,05	9,01 a
S+A	9,87	7,51	8,69 ab	10,05	7,59	8,82 a
S+H	9,15	7,64	8,39 ab	8,39	7,07	7,73 ab
A+H	8,05	4,96	6,51 b	6,35	6,07	6,22 b
S+A+H	8,63	5,62	7,13 ab	6,23	6,1	6,17 b
Controle	8,35	4,73	6,54 b	6,13	6,85	6,49 b
Média	9,47 A	6,52B		8,13 A	7,13 B	

Trat. = Tratamentos de semente; S = Stimulate<sup>®</sup>; A = *Azospirillum brasilense*; H = *Herbaspirillum seropedicae*; S+A = Stimulate<sup>®</sup> + *Azospirillum brasilense*; S+H = Stimulate<sup>®</sup> + *Herbaspirillum seropedicae*; A+H = *Azospirillum brasilense* + *Herbaspirillum seropedicae*; S+A+H = Stimulate<sup>®</sup> + *Azospirillum brasilense* + *Herbaspirillum seropedicae*; CR = Comprimento de raiz; NR = Número de raiz.

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna, minúscula na linha, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.



É sabido que as bactérias diazotróficas endofíticas produzem hormônios que são capazes de promover o crescimento e alterações no formato do sistema radicular, o que promove uma maior absorção de água e nutrientes (Mirza et al., 2001). Conceição et al. (2008) observaram que a inoculação com bactérias diazotróficas em milho promoveu maior comprimento de raiz onde o tratamento controle apresentou valor de 6,71 cm, porém este foi inferior a média obtida pela inoculação com *Herbaspirillum seropedicae* que correspondeu a 9,71 cm. Estes valores foram semelhantes aos observados neste trabalho para os mesmos tratamentos, que correspondem as médias de 6,54 e 8,09 cm respectivamente. Sendo que o Stimulate<sup>®</sup> foi o tratamento que resultou em comprimento de raízes superior. De maneira geral pode-se observar que a utilização bioestimulantes proporcionou incremento mais eminente no desenvolvimento inicial de plântulas de milho.

### CONCLUSÕES

Os tratamentos com Stimulate<sup>®</sup>, *Azospirillum brasilenses* e *Herbaspirillum seropedicae* não influenciam o índice de velocidade de germinação, comprimento da parte aérea e porcentagem de germinação.

O híbrido 30A91HX apresenta maior porcentagem de germinação, comprimento de raiz e número de raiz que o 30F53H.

As associações de *Azospirillum brasilenses* + *Herbaspirillum seropedicae*, Stimulate<sup>®</sup> + *Herbaspirillum seropedicae* e *Azospirillum brasilenses* + Stimulate<sup>®</sup> + *Herbaspirillum seropedicae* promoveram incremento no desenvolvimento inicial do milho.

### AGRADECIMENTOS

Ao INCT – Fixação Biológica de Nitrogênio; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES; e à Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná e à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior do Paraná – SETI.

### REFERÊNCIAS

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.

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

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

BOTTINI, R.; FULCHIERI, M.; PEARCE, D.; PHARIS, R. Identification of gibberelins A1, A3, and iso-A3 in cultures of *A. lipoferum*. *Plant Physiology*, v.90, p.45-47, 1989.

BRACCINI, A.L. et al. Emergência das plântulas e componentes da produção de sementes em resposta a diferentes doses e formas de aplicação do bioestimulante Stimulate 10X na cultura da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 27, 2005, Cornélio Procópio. **Resumos expandidos...** Londrina: Embrapa Soja, 2005. p. 565-566.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNPA/DNPV/CLAV, 2009. 395p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4 ed. Jaboticabal : FUNEP, 2000, 588p.

CASSÁN, F.; SGROY, V.; PERRIG, D.; MASCIARELLI, O.; LUNA, V. Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp. Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.61-86.

CASTRO, G.S.A.; BORGIANI, J.C.; SILVA, M.G.; GAZOLA, E.; ROSOLEM, C.A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.43, n.10, p.1311-1318, 2008.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2001. 132 p.

CAVALLET, L. E.; PESSOA, A. C. 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.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra Brasileira: grãos, décimo primeiro levantamento agosto 2013/ Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília: Conab, 2013. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_08\\_09\\_10\\_43\\_44\\_boletim\\_portugues\\_agosto\\_2013\\_port.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_08_09_10_43_44_boletim_portugues_agosto_2013_port.pdf)>. Acesso em 10 de agosto de 2013.

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

CORREA, O.S.; ROMERO, A.M.; SORIA, M.A.; DE ESTRADA, M. Azospirillumbrasilense-plant genotype interactions modify tomato responseto bacterial diseases, and root and foliar microbial communities. In:CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. (Ed.) Azospirillumsp.: cellphysiology, plant interactions and agronomic research in Argentina.Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p.87-95.

DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. *Bio/Technology*, v.6, p.282- 286, 1988.

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.

FAROOQ, M.; BARSA, S.M.A.; WAHID, A. Priming of field-sown rice seed enhances germination, seedling establishment, allometry and yield. **Plant Growth Regulator**, Dordrecht, v.49, p.285-294, 2006.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOMETRIA, 45. 2000, São Carlos. *Anais...* São Carlos: UFSCAR, 2000. 41p.

FERREIRA, L.A.; OLIVEIRA, J.A.; VON PINHO, E.V.R.; QUEIROZ, D.L. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, v.29, n.2, p.80-89, 2007.

GARCIA JUNIOR, D.; VECHIATO, M. H.; MENTEN, J. O. M. Efeito de fungicidas no controle de *Fusarium graminearum*, germinação, emergência e altura de plântulas em sementes de trigo. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 34, n. 3, p. 280-283, 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. Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35.

KAMPER, M.; LI, C. Cytocinin-like-substances and ethylene production by Azospirillum in media with different carbon sources. *Microbiological Research*, v.149, p.55-60, 1994.

KAPPES, C.; COSTA ANDRADE, J. A. da; IWAMOTO HAGA, K.; FERREIRA, J. P.; ARF, M. V. Germinação, vigor de sementes e crescimento de plântulas de milho sob condições de déficit hídrico. *Scientia Agraria*, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 125-134, 2010.

KLAHOLD, C. A. et al. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) a ação de bioestimulante. *Acta Scientiarum Agronomy*, v. 28, n. 02, p. 179-185, 2006.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*. v.7, p.39-43, 1989.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection emergence and vigor. *Crop Science*. Madison, v. 2, p. 176-7, 1962.

MARTINELLI-SENEME, A.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Germinação de milho cv. AL-34 em função do tamanho da semente e do potencial hídrico do substrato. *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 22, n. 2, p. 131-138, 2000.

MIRZA, M. S.; AHMAD, W.; LATIF, F.; HAURAT, J.; BALLY, R.; NORMAND, P.; MALIK, K. A. Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micropropagated sugarcane in vitro. *Plant and Soil*, Amsterdam, v. 237, p. 47-54, 2001.

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.

PERRIG, D.; BOIERO, L.; MASCIARELLI, O.; PENNA, C.; CASSÁN, F.; LUNA, V. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.75, p.1143-1150, 2007.

RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; GOUVEIA, J. A.; SOARES, R. C. Nitrogen translocation in wheat inoculated with *Azospirillum* fertilized with nitrogen. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 7, p. 1473-1481, 2000.

RODRIGUES, O.; DIDONET, A.D.; GOUVEIA, J.A.; SOARES, R.C. Nitrogen translocation in wheat inoculated with *Azospirillum* fertilized with nitrogen. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, n.7, p.1473-1481, 2000.

TIEN, T.M.; GASKINS, M.H.; HUBBELL, D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, v.37, p.1016-1024, 1979.

USDA - United States Department of Agriculture. World Agricultural Production – may of 2013. Disponível em: <http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/viewDocumentInfo.do?documentID=1860>. Acessado em: 18 jun. 2013.

VIEIRA, E.L.; CASTRO, P.R.C. **Ação de bioestimulante na cultura da soja (*Glycine max* L. Merrill)**. Cosmópolis: Stoller do Brasil, 2004. 47p.

---

Recebido para publicação em: 17/12/2013

Aceito para publicação em: 04/06/2014