

DESEMPENHO GERMINATIVO DE SEMENTES DE SOJA E TRIGO TRATADAS COM BIOINOCULANTES

Jean Vitor Coutinho¹; Júlio César Altizani Júnior²; Guilherme Augusto Shinozaki³; Jorge Rodrigo Arndt⁴; Victor Matheus Martins⁵; Cristina Batista de Lima⁶; Leopoldo Sussumu Matsumoto⁷; Nair Mieko Takaki Bellettini⁸

Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel (UENP/CLM), Bandeirantes/PR; ^{1,2,5}Graduandos em Agronomia: jean.vitor.coutinho@hotmail.com; jr.altizani@hotmail.com; victor.matheus.martins@hotmail.com; ^{3,4}Mestrando em Agronomia: guilherme_shinozaki@hotmail.com; jorgerodrigoarndt@gmail.com; ^{6,7,8}Professores Associados: crislima@uenp.edu.br; leopoldo@uenp.edu.br; mieko@uenp.edu.br

RESUMO

Os bioinoculantes à base de bactérias fazem parte de um pacote tecnológico agrícola capaz de proporcionar aumento da produtividade das lavouras, diante da crescente demanda por produtos agrícolas. A eficiência da inoculação de sementes com tais microrganismos no crescimento e aumento da produtividade das plantas é cientificamente comprovada, porém, a ação das bactérias presentes nestes produtos sobre o desempenho germinativo das sementes, requer maior investigação. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da inoculação de produtos comerciais e de um isolado bacteriano em estudo na UENP/CLM, sobre a germinação de sementes de soja e trigo. Foram utilizados 3 lotes de sementes de soja cv. M6410 IPRO e 2 lotes de sementes de trigo cv. Mestre. Para caracterização inicial dos lotes, as sementes foram submetidas ao teste de determinação do teor de água. Em seguida, foram tratadas com inoculante comercial e solução contendo as bactérias em estudo. Como testemunha foram utilizadas sementes sem nenhum tratamento, hipoclorito de sódio 1% (usado para assepsia das sementes) e solução salina de cloreto de sódio 0,85% (utilizada na suspensão do isolado bacteriano). Após os tratamentos as sementes foram submetidas aos testes de primeira leitura da germinação e germinação. Os resultados variaram conforme a espécie e, a qualidade fisiológica do lote, não houve um incremento considerável sobre o desempenho germinativo, ao contrário, em alguns casos verificou-se uma redução no percentual de sementes germinadas. Os inoculantes comerciais analisados devem ser utilizados com cautela, pois, podem ocasionar redução na taxa de germinação.

Palavras-chave: *Glycine max* L. *Triticum aestivum* L. Qualidade fisiológica. Tratamento de sementes.

Germination performance of soybean and wheat seeds treated with bioinoculants

ABSTRACT

Bacterial based bioinoculants are part of an agricultural technological capable of increasing crop productivity, given the growing demand for agricultural products. The efficiency of seed inoculation with such microorganisms in growth and increase of plant productivity proven scientifically, however, the action the bacteria present in these products on germination seeds performance, requires further investigation. This study aimed to evaluate the effect of inoculation of commercial products and a bacterial isolate under study at UENP/CLM, on

germination of soybean and wheat seeds. Three lots of soybean seeds cv. M6410 IPRO and 2 lots of wheat seeds cv. Master. For initial characterization of the lots, the seeds submitted to the water content determination test. Then, they treated with solutions containing the bacteria, 1% sodium hypochlorite and 0.85% sodium chloride saline. As a control, seeds used without any treatment, sodium hypochlorite 1% (used for asepsis of seeds) and sodium chloride 0.85% saline (used in the suspension of the bacterial isolate). After the treatments, the seeds submitted to first reading tests of germination and germination. The results varied according to species and, the physiological quality of lot, there was not a considerable increase on germination performance, on the contrary, in some cases there was a reduction in the percentage of germinated seeds. The commercial inoculants analyzed must use with caution, as they may cause a reduction in the germination rate.

Key words: *Glycine max* L. *Triticum aestivum* L. Physiological quality. Seeds treatment.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é uma valiosa cultura mundial do ponto de vista econômico e nutricional para humanos e animais. No Brasil, a produção nacional de soja rendeu na safra 2018/19 115 milhões de toneladas de grãos, equivalente a R\$ 136,25 bilhões em receita bruta (Conab, 2019). O cultivo do trigo (*Triticum aestivum* L.) tem relevada importância histórica e econômica no sistema de produção brasileiro, durante o período de inverno. Entretanto, em 2019 a produção de 5,35 milhões de toneladas de grãos foi menor que a demanda interna, sendo necessária a importação da Argentina (Conab, 2020).

O Nitrogênio (N) é um dos nutrientes absorvidos em maior quantidade pelas culturas da soja e trigo, podendo ser fornecido por adubos químicos, orgânicos ou pelas associações com bactérias diazotróficas. O Brasil é considerado modelo na aplicação dos chamados bioinoculantes a base de bactérias, desenvolvendo produtos comerciais com os gêneros *Bradyrhizobium*, para a cultura da soja e, *Azospirillum* para o cultivo do trigo (Hungria e Nogueira, 2017).

Os bioinoculantes são cientificamente eficazes em promover o crescimento e aumentar a produtividade das plantas. Segundo Bulgarelli et al. (2013), tais bactérias podem atuar diretamente sobre o desenvolvimento vegetal quer seja pela fixação e metabolismo do nitrogênio, produção de fitohormônios, solubilização de nutrientes ou pela supressão de agentes fitopatogênicos. As bactérias dos gêneros *Azospirillum* e *Rhizobium* são amplamente estudadas, entretanto, trabalhos para a identificação de novas estirpes bacterianas com aplicabilidade biotecnológica são bem-vindos.

Os inoculantes são aplicados, na forma líquida ou turfosa, diretamente sobre as sementes no momento do plantio (Nomura et al., 2019), porém, a ação das bactérias presentes nestes produtos sobre a germinação das sementes, requer maior investigação científica, pois, o desenvolvimento de uma planta no campo, depende das fases iniciais da germinação, emergência e o estabelecimento da plântula, consideradas decisivas para a implantação da lavoura. Conforme Bulegon et al. (2014), o uso de *Bradyrhizobium japonicum* na semeadura não interfere na germinação e emergência de plântulas de soja. Nos Estados Unidos, um produto comercial com o nome de Azo-Green™ contendo bactérias do gênero *Azospirillum* foi desenvolvido para aumentar o vigor de sementes (Reis, 2007). A inoculação de sementes de arroz com *Azospirillum*, no trabalho de Araújo et al. (2010), aumentou a velocidade de germinação destas sementes. Dartora et al. (2013) concluíram que a inoculação de *A.*

brasilense influenciou de forma variável a germinação de sementes e, o desenvolvimento inicial de plântulas de trigo.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da inoculação de produtos comerciais e, de um isolado bacteriano em estudo na UENP/CLM, sobre a germinação de sementes de soja e trigo.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido nos laboratórios de análise de sementes e de microbiologia do solo da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes/PR. Foram utilizados três lotes comerciais de sementes de soja cv. M6410 IPRO e, dois lotes comerciais de sementes de trigo cv. Mestre. As sementes estavam isentas de tratamento sanitário e, foram fornecidas em embalagens plásticas, por sementeiras localizadas em municípios próximos a Bandeirantes/PR. Logo após a aquisição das sementes foi realizada a Determinação do teor de água (TA) - método da estufa a 130 ± 3 °C por 1 hora (Brasil, 2009), com duas sub amostras de 10,0 g de sementes de cada lote.

Os tratamentos foram estabelecidos conforme descrito a seguir:

Tratamento	Descrição
Inoculante comercial	Produto comercial específico para cada cultura.
Isolado bacteriano	Bactéria em estudo como potencial promotor do crescimento de plantas, no Laboratório de microbiologia da UENP/CLM.
Hipoclorito de sódio 1%	Usado para a assepsia de sementes em análises de laboratório.
Solução salina	Utilizada no preparo da suspensão bacteriana com o isolado em estudo.
Testemunha	Sem nenhum tratamento.

Para as sementes de soja utilizou-se o produto comercial Adhere[®] 60, inoculante turfoso sólido contendo *Bradyrhizobium elkanii* estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019, na concentração de 5×10^9 UFC/g. Nas sementes de trigo foi empregado o produto comercial AzoTotal[®], inoculante turfoso sólido contendo *Azospirillum brasilense* estirpes Ab-V5 e Ab-V6, na concentração de 2×10^8 UFC/g.

O isolado bacteriano em estudo no laboratório de microbiologia da UENP/CLM foi cultivado em meio TSA (Ágar Triptona de Soja) e, ressuspendido em 200 mL de solução salina de cloreto de sódio a 0,85%. A concentração do isolado foi ajustada pela escala 2 de McFarland, para 10^{10} UFC/mL. A suspensão com o isolado bacteriano foi utilizada em quantidade suficiente para o tratamento de uma repetição de sementes na proporção de 10 mL, nos lotes de sementes de soja e, 5 mL nos lotes de sementes de trigo.

A fim de uniformizar a aplicação líquida para os tratamentos foram preparadas soluções, com os inoculantes comerciais de acordo com as recomendações técnicas dos fabricantes, expressas nas embalagens de cada produto.

Para o preparo das soluções com o inoculante Adhere[®] 60 foram diluídas 48 g do produto em 120 mL de água destilada (quantidade suficiente para umedecer os rolos de papel filtro deste tratamento). Para o preparo das soluções com o inoculante AzoTotal[®] foram

diluídas 40 g do produto em 200 mL de água destilada açucarada (10%) conforme a recomendação do fabricante.

As amostras dos lotes de sementes de soja e trigo, antes de cada inoculação foram submetidas a assepsia, com imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1%, pelo período de 3 minutos e, secas sobre papel filtro esterilizado (Brasil, 2010). Após cada tratamento instalou-se os testes de germinação, conforme as recomendações das regras para análise de sementes para cada espécie (Brasil, 2009).

Teste de germinação (TG) para sementes de soja - quatro repetições de 50 sementes por lote e tratamento. Os rolos de papel filtro foram preparados com as folhas sendo previamente umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco e, mantidos sob temperatura de 25 °C. O número de plântulas normais foi avaliado no quinto e oitavo dia após a instalação. Primeira leitura do teste de germinação (PLG) - conduzido juntamente com o teste de germinação, contabilizando-se o número de plântulas normais no quinto dia após instalação.

Teste de germinação (TG) para sementes de trigo - quatro repetições de 50 sementes por lote e tratamento. Os rolos de papel filtro foram preparados com as folhas sendo previamente umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco e, mantidos sob temperatura de 20 °C. O número de plântulas normais foi avaliado aos quatro e oito dias após a instalação. Primeira leitura do teste de germinação (PLG) - conduzido juntamente com o teste de germinação, contabilizando-se o número de plântulas normais no quarto dia após instalação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos, cada um contendo quatro repetições com 50 sementes para cada lote/cultura. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5%, utilizando-se o software Sisvar[®] (Ferreira, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água dos lotes de sementes de trigo ficou entre 9,8% (lote 1) e 9,7% (lote 2). Nas sementes de soja os percentuais foram de 3,7% (lote 1), 7,2% (lote 2) e 4,3% (lote 3). Estes percentuais estão de acordo com o teor máximo de 13% de umidade recomendados pelo MAPA (Brasil, 2011) para o armazenamento de sementes de soja e trigo. Segundo Carvalho e Nakagawa (2012), o teor de água está relacionado com o nível da atividade metabólica das sementes, sendo que valores superiores a 12% podem reduzir os percentuais de germinação. Costa (2012) relatou que tais percentuais, em sementes ortodoxas podem chegar até 5%, visando garantir maior longevidade no armazenamento. Contudo, conforme Carvalho e Nakagawa (2012) mesmo apresentando redução da atividade respiratória das sementes e do ataque de pragas de armazenamento, teores entre 4 a 8% podem levar a uma rápida deterioração quando condicionadas inadequadamente.

Os lotes de sementes de soja com menores percentuais de umidade (1 e 3) apresentaram melhores resultados no teste de germinação para o tratamento testemunha (Tabela 1). Os tratamentos influenciaram tanto a velocidade de germinação quanto o total de plântulas normais obtidas. Nos lotes 1 e 3 houve uma redução significativa do percentual de germinação em todos os tratamentos e, no lote 2 os tratamentos com hipoclorito e inoculante comercial não diferiram da testemunha permanecendo com médias superiores aos 80%

estabelecidos pelo MAPA (Brasil, 2013) para a comercialização de sementes de soja no Brasil.

Os lotes de sementes de soja apresentaram bom desempenho germinativo no tratamento testemunha, com médias superiores a 80%, porém, este desempenho na maioria dos lotes foi prejudicado pelos tratamentos (Tabela 1). As sementes inoculadas com o isolado bacteriano apresentaram menor percentual de germinação nos lotes 1 e 2. O tratamento com o inoculante comercial, mostrou efeito semelhante, ao proporcionar redução no percentual de germinação dos lotes 1 e 3. Assumpção et al. (2009), avaliando o potencial biotecnológico de bactérias endofíticas de sementes de soja, observaram atuação diferenciada dos inoculados, sinalizando que a promoção de crescimento de plantas é um fenômeno complexo, envolvendo interação entre vários microrganismos e fatores. Os autores concluíram que a inoculação de isolados com elevado potencial biotecnológico em avaliações in vitro não promoveu o crescimento de plantas de soja na maioria dos casos.

Nas sementes de trigo do lote 2, com menor percentual de germinação, os tratamentos tiveram influência maior sobre a velocidade de germinação, do que sobre o total de plântulas germinadas (Tabela 2). No teste de germinação as médias dos tratamentos do lote 2 demonstraram uma redução que variou entre 6,6% a 11,2% e, apesar de não diferirem significativamente da testemunha ficaram abaixo do percentual mínimo exigido pelo MAPA (Brasil, 2013). No lote 1 a velocidade de germinação e o percentual de plântulas normais germinadas não foram influenciados pelos tratamentos, ao mesmo tempo em que não diferiram da testemunha, atingindo percentuais mínimos de 90,4% indicando que as sementes deste lote estavam com melhor qualidade fisiológica que as do lote 2.

Os resultados demonstraram que as respostas aos tratamentos variam conforme a espécie e a qualidade fisiológica dos lotes, pois, os lotes de sementes de soja apresentaram comportamento diferente em comparação com os lotes de sementes de trigo. De acordo com Rodrigues et al. (2014), existe uma relação específica entre a estirpe da bactéria com a cultivar que se deseja produzir, denominada especificidade planta-bactéria e, conforme Cantarella (2007) essa é uma das principais causas de inconsistência de ganhos produtivos com a utilização de bactérias promotoras de crescimento vegetal.

Tabela 1. Percentuais médios de plântulas normais verificados na primeira leitura da germinação (PLG) e no teste de germinação (TG), de três lotes de sementes de soja cv. M6410 IPRO, após inoculação com isolado bacteriano, inoculante comercial (*Bradyrhizobium elkanii*) solução salina e hipoclorito de sódio. UENP-CLM, Bandeirantes-PR, 2020.

Tratamento	PLG			TG		
	Lotes			Lotes		
	1	2	3	1	2	3
Testemunha	86,0 Aa	64 Ab	84,0 Aa	94,0 Aa	85,0 Aa	91,6 Aa
Solução salina	69,6 Ba	35,6 Bc	47,6 Cb	80,0 Ba	69,0 Bb	66,0 Bb
Hipoclorito	76,0 Ba	65,6 Aa	68,0 Ba	84,0 Ba	83,6 Aa	78,4 Ba
Isolado	50,4 Cb	41,6 Bb	63,0 Ba	61,0 Cb	63,0 Bb	74,0 Ba
<i>Bradyrhizobium</i>	57,6 Ca	56 Aa	67,0 Ba	76,0 Bb	86,0 Aa	72,0 Bb
CV (%)	13,11			8,17		

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%. CV = Coeficiente de variação.

Tabela 2. Percentuais médios de plântulas normais verificados na primeira leitura da germinação (PLG) e no teste de germinação (TG), de dois lotes de sementes de trigo cv. Mestre, após inoculação com isolado bacteriano, inoculante comercial (*Azospirillum brasilense*), sementes tratadas com solução salina e com hipoclorito de sódio. UENP-CLM, Bandeirantes/PR, 2020.

Tratamento	PLG		TG	
	Lotes		Lotes	
	1	2	1	2
Testemunha	88,4 Aa	65,6 Ab	97,0 Aa	81,6 Ab
Solução salina	77,0 Aa	45,0 Bb	90,4 Aa	75,0 Ab
Hipoclorito	88,4 Aa	43,0 Bb	97,0 Aa	70,4 Ab
Isolado	76,4 Aa	40,4 Bb	90,4 Aa	72,0 Ab
<i>Azospirillum</i>	82,4 Aa	48,4 Bb	92,4 Aa	71,0 Ab
CV (%)	11,6		7,5	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%. CV = Coeficiente de variação.

CONCLUSÃO

A resposta dos lotes de sementes de soja e trigo variou conforme a espécie e, a qualidade fisiológica do lote, sendo que na melhor das hipóteses manteve o desempenho observado na testemunha. Não houve um incremento considerável sobre o potencial germinativo e, os inoculantes comerciais analisados devem ser utilizados com cautela, pois, podem ocasionar redução na taxa de germinação.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão da bolsa aos autores mestrandos. À Fundação Araucária e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas bolsas de iniciação científica e iniciação em desenvolvimento tecnológico e inovação aos autores graduandos.

LITERATURA CITADA

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

ASSUMPCÃO, L. C.; LACAVA, P. T.; DIAS, A. C. F.; AZEVEDO, J. L.; MENTEN, J. O. M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 5, p. 503-510, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2013. Seção 1, p. 16.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 29, de 8 de junho de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2011. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 12 de novembro de 2010. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2010. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 399p.

BULGARELLI, D.; SCHLAEPPI, K.; SPAEPEN, S.; VAN THEMAAT, E. V. L.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 807-838, 2013.

BULEGON, L. G.; KLEIN, J.; RAMPIM, L.; GUIMARÃES, V. F.; BATTISTUS, A. G.; KESTRING, D. Desenvolvimento inicial de plântulas de soja inoculadas e co-inoculadas com *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium japonicum*. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 3, n. 1, p. 26-37, 2014.

CANTARELLA, L. Nitrogênio. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. V. H.; BARROS, R. L. F. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Ed.). **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, 2007. p. 376-470.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. (Ed.). **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. v. 6. Safra 2018/19: décimo segundo levantamento. Brasília: Conab, 2019. 126p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**. v. 7. Safra 2019/20: quinto levantamento. Brasília: Conab, 2020. 112p.

COSTA, C. J. **Deterioração e armazenamento de sementes de hortaliças**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 30p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 355).

DARTORA, J.; MARINI, D.; GUIMARÃES, V. F.; PAULETTI, D. R.; SANDER, G. Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de milho e trigo inoculadas com estirpes de *Azospirillum brasilense* e *Herbaspirillum seropedicae*. **Global Science and Technology**, v. 6, n. 3, p. 190-201, 2013.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista brasileira de biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*: uma tecnologia ambientalmente sustentável e economicamente bem sucedida. **Resumos expandidos da XXXVI Reunião de Pesquisa de Soja**. Londrina: Embrapa, 2017, p. 203-205.

NOMURA, M.; BARBOSA, G. G. F.; SILVA, C. H. L.; COSTA, E. M.; VENTURA, M. V. A.; VILARINHO, M. S.; PEREIRA, L. S. Qualidade fisiológica de sementes de soja submetidas a doses do inoculante *Bradyrhizobium japonicum*. **Ipê Agronomic Journal**, v. 3, p. 91-96, 2019.

REIS, V. M. **Uso de Bactérias Fixadoras de Nitrogênio como Inoculantes para Aplicação em Gramíneas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 22p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 232).

RODRIGUES, L. F.; GUIMARÃES, V. F.; SILVA, M. B. D.; PINTO JUNIOR, A. S.; KLEIN, J.; DA COSTA, A. C. Características agronômicas do trigo em função de *Azospirillum brasilense*, ácidos húmicos e nitrogênio em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 31-37, 2014.