

Scientific Electronic Archives (6): 90-96, 2014.

# Germinação de Gramíneas Forrageiras em Função da Inoculação de **Bactérias Diazotróficas**

# Germination of Grasses Due to Inoculation Diazotrophic Bacteria

C. D. A. Moreira 1+, D. H. Pereira 1, R. A. Coimbra 1, I. D. A. Moreira 1

<sup>1</sup> Universidade Federal de Mato Grosso – Campus Sinop \* Autor correspondente: moreira.caio@hotmail.com

#### Resumo

O uso de microrganismos inoculados em sementes com a finalidade de incrementar e suprir a demanda de algum nutriente tem se mostrado eficiente, mas o papel do microrganismo na germinação e taxa de vigor ainda é desconhecido. O objetivo do trabalho foi avaliar a taxa de germinação de sementes de três cultivares de Brachiaria, B. brizatha cv marandu, B. brizantha cv xaraés e B. humidicola cv Tupi e, uma cultivar de Panicum, Panicum maximum cv massai em função da inoculação da bactéria diazotrófica Azospirillum brasilense (fixadora de nitrogênio). Foi utilizado o teste de germinação em gerbox para avaliar o vigor de primeira contagem (VPC) nos tratamentos sem e com a bactéria. Também foram realizados testes complementares de condutividade elétrica, peso de mil sementes e teor de água. Os dados foram analisados por análise de variância e comparados por teste Tukey. As sementes do capim Massai apresentaram a maior taxa de vigor de primeira contagem tanto no tratamento com inoculação quanto no sem. A inoculação com bactéria Azospirillum brasilense não afeta os valores de germinação de primeira contagem das sementes das cultivares Marandu, Xaraés, Tupi e Massai. As sementes da cultivar Massai possui maior velocidade de germinação em relação as demais cultivares avaliadas quando foram inoculadas.

Palavras-chave: forrageira; inoculação; germinação.

The use of microorganisms inoculated in seeds with the purpose of increasing and meet the demand of some nutrient has been shown to be efficient, but the role of the microorganism in germination and rate of force is still unknown. The aim of this study was to evaluate the germination rate of seeds of three cultivars of Brachiaria brizantha CV. Marandu, b., b. brizantha CV. Xaraés and b. humidícola cv Tupi and a cultivar of millet, P. hybrid cv Massai depending on the bacterium Azospirillum brasilense diazotrofic inoculation (nitrogen-fixing). Germination test was used in seed dispersal to assess the effect of first count (VPC) in the treatments with and without inoculation. It was done also conducted further tests of electrical conductivity, weight of thousand seeds and water content. Data were analyzed by analysis of variance and compared by Tukey test. Massai grass seeds have the highest rate of force of first count in both treatments. Inoculation of bacterium Azospirillum brasilense did not affect the values of force of first count on seeds of the cultivars Marandu, Xaraés, Tupi and Massai. The seeds of the massai have higher germination speed relative the other cultivars evaluated when inoculated.

Keywords: Forage; Inoculation; Germination.

## Introdução

O Brasil é um país com grande potencial produtivo quando nos referimos à agropecuária, pois possui cerca de 170 milhões de hectares sob pastagens, sendo que 100 milhões de hectares se destinam a pastagem cultivada ou implantada e os outros 70 milhões de hectares a pastagens nativas. A forma de produção pecuária brasileira é quase que exclusivamente a pasto, sendo que este contribui com cerca de 99% da dieta dos bovinos no país.

Por esse fator, é essencial que o manejo das gramíneas forrageiras esteja de acordo com as características edafoclimáticas em que a mesma será introduzida, para que a planta consiga produzir em massa verde todo o potencial esperado.

Brachiaria, 0 gênero concomitantemente, com 0 aênero Panicum são exemplos de gramíneas que respondem muito bem a uma adubação regular, especialmente ao nitrogênio, pois se mostram exigentes de média e alta fertilidade. Dentro das espécies Brachiaria existem três que se destacam; B. brizantha cv Marandu, B. brizantha cv Xaraés, B. humidicola cv Tupi e no gênero Panicum vem se sobressaindo o Panicum hibrido cv Massai. Os gêneros Brachiaria spp. e Panicum spp. são os de maior interesse para a pecuária nacional, o que pode ser confirmado pela área produzida, em que cerca de 70 a 80% da área com pastagens cultivadas no Brasil utiliza-se pertencentes cultivares а esses gêneros (Rodrigues, 2004).

Porém, a semente dessas gramíneas sofre com o fenômeno de dormência, onde a semente pode ficar de três a seis meses metabolismo seu estacionado, prejudicando a taxa e a uniformidade de germinação, resultando em um estande fraco a campo, além de uma péssima cobertura do solo, tornando a pastagem ineficiente. Α aerminação pode definida retomada como a do crescimento do eixo embrionário e só ocorre dentro de determinados limites de temperatura, nos quais existe uma faixa de temperatura na qual o processo ocorre com a máxima eficiência, obtendo-se o máximo de germinação no menor período possível (Carvalho e Nakagawa, 2000).

As sementes utilizadas na formação de pastagens devem apresentar alta pureza física, uma vez que sementes de ervas daninhas ou outras impurezas (talos, folhas, etc.) podem afetar seu desenvolvimento e obstaculizar o trabalho de semeadura (Usberti, 1981). Além da qualidade das sementes, outro fator que está diretamente ligado com a boa qualidade e formação da pastagem é a associação entre plantas e microrganismos. Na soja, não se faz necessário a adubação com N devido a eficiência excelente da associação planta-bactéria. aramíneas Nas resultados são mais recentes, maioria deles indica que existe uma excelente relação entre o vegetal e o microrganismo.

Pereira et. al. (1981) já haviam demonstrado que diferentes espécies de Brachiaria spp. parecem receber contribuições de Fixação biológica de Nitrogênio (FBN) de forma diferenciada. Sua análise foi baseada na redução do acetileno (atividade da nitrogenase). Esses estudos revelaram também que contribuições da FBN ultrapassaram 30 a 40% do N acumulado pelas plantas. Isso faz com que se torne possível os sistemas de manejos mais extensivos, em que as vias de menos significativas, perdas são quantidade de N fixado seja suficiente para proporcionar um balanço nulo ou até positivo de N para o sistema solo-planta.

Dentre estes microrganismos, o gênero Azospirillum compreende as bactérias diazotróficas mais estudadas e têm sido relatadas em associação com grande de espécies de cereais gramíneas forrageiras, cultivadas tanto em clima tropical quanto em clima temperado (Baldani, 1984). Esse microrganismo associado às gramíneas forrageiras demonstrou resultados satisfatórios incremento de nitrogênio na planta, aumentando sua área foliar consequentemente, sua produtividade. Também há relatos de que esse microrganismo auxilia no crescimento radicular de forma que, induz a produção

do Ácido Indol Acético (AIA), um hormônio promotor de crescimento meristemático ocasiona uma maior área superfície radicular, aumentando a área absorção de água е nutrientes resultando em um maior crescimento da associação planta em à bactéria diazotrófica (Vende Broek & Vanderleyden, 1995). Porém, não há estudos que relatem se essa bactéria inoculada via semente pode trazer algum beneficio germinação, ajudando direta OU indiretamente a planta.

Visto a importância desses dois gêneros mencionados, juntamente com a boa expectativa da bactéria em associação com gramíneas e a necessidade de se apresentar taxas adequadas de germinação de sementes de forrageiras, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a taxa de germinação de quatro gramíneas forrageiras tropicais, com a utilização OU não de inoculante (Azospirillum brasiliense).

#### Métodos

foi trabalho realizado 0 na Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário de Sinop, no laboratório de Produção e Tecnologia de Sementes. Para determinação do efeito da inoculação das sementes de gramíneas com a bactéria Azospirillum brasiliense, utilizou-se quatro materiais, sendo três cultivares de Brachiaria: B. brizantha cv Marandu, B. brizantha cv Xaraés, B. humidicola cv Tupi e uma cultivar de Panicum, a cultivar Massai (Panicum infestum). maximum x Panicum Para avaliação inicial de qualidade de sementes foram utilizados os seguintes testes: germinação padrão, massa de mil sementes, teste de condutividade elétrica da solução de embebição das sementes e teor de água (R.A.S, 2009). A verificação do vigor das sementes foi realizada com base na primeira contagem do teste de aerminação. delineamento Ο experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com dois tratamentos (inoculado OU não com bactéria diazotrófica (Azospirillum brasilense), sendo a análise estatística realizada através da análise de variância e a comparação das médias através do teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Não houve nenhum método, para superação de dormência, realizado nesse experimento. O inoculante utilizado foi o AzoTotal, contendo as estirpes ABV 5 e ABV6. A concentração do microrganismo recomendada pela Embrapa **Agrossilvipastoril** foi de 100 ml do inoculante para cada 25 kg de semente. O cálculo de conversão foi realizado com base no peso do papel mata borrão com 2,5 vezes o seu peso em água, totalizando em 65 ml de água. A solução foi de 2,6 ml bactéria em 65 ml de aproximando em 70 ml de solução. Em cada gerbox, foi utilizado 6,76 ml de solução. A inoculação nas sementes que possuíam grafite foi feita no papel mata borrão e a cultivar Tupi, a única que não tinha grafite, foi introduzida em saco plástico, sendo a solução disponibilizada no mesmo de forma homogênea afim de que todas as sementes tivessem contato com o inoculante.

teste de teor de água foi 0 determinado nos quatro materiais pelo método da estufa a 105 ± 3°C por 24 horas, subamostras utilizando duas sementes (R.A.S., 2009), além de uma analítica com auatro balanca decimais. teste 0 de condutividade elétrica foi realizado utilizando-se o sistema de massa com quatro repetições de 50 sementes por lote, com а determinada em balança de precisão de 0,0001 g e colocada com água destilada a 25°C por 24 horas (Vieira e Krzyzanowski, 1999) em um germinador B.O.D.

Depois do tempo recomendado a condutividade elétrica da condução foi determinada pelo condutivímetro (W120 conductimity meter) e os valores médios foram calculados e expressos em µS.cm-1.g-1 de semente. Para determinação do peso de mil sementes foram usadas 800 sementes de cada material (R.A.S., 2009), sendo que cada repetição foi pesada em uma balança de precisão e determinado a média de cada material, bem como a variância, desvio padrão, coeficiente de

variação e, por fim, o peso de mil sementes.

Foram utilizados 4 subamostras de 50 sementes por cultivar para a realização do teste de germinação no gerbox, em papel mata borrão previamente autoclavado e umedecido com água destilada, proporção de 2,5 vezes a massa do substrato com temperatura constante de 30°C, no germinador Mangelsdorf, sem fotoperíodo. Os quatro materiais foram subdivididos em inoculados não inoculados concentração na recomendada. As leituras foram feitas no sétimo e vigésimo primeiro dia, para as gramíneas do gênero Brachiaria e, décimo e viaésimo oitavo dia , para as do aênero Panicum (R.A.S., 2009).

Os dados obtidos foram analisados e comparados para avaliar quais espécies apresentaram melhor desempenho em relação ao valor de primeira contagem Inoculado (VPCI) e Valor de primeira contagem não inoculado (VPCNI). Os procedimentos de análise estatística foram realizados com o auxílio do programa SAS 9.0 (2003).

#### Resultados e discussão

Na Tabela 1 estão demonstrados os valores médios para o vigor de primeira

contagem inoculado (VPCI, %), valores de primeira contagem não inoculado (VPCNI, %), condutividade elétrica (CE, µS.cm-1. g - 1), peso de mil sementes (P1000, g) e teor de água (TA, %) para sementes das diferentes cultivares de gramíneas, inoculadas ou não com Azospirillum brasilense.

Como podem ser observados na Tabela 1, os valores de vigor primeira contagem, inoculados ou não, foram independentes baixos, cultivar da analisada. Em gramíneas forrageiras se faz necessário o uso de diferentes métodos diferentes para superar causas dormência. Sendo assim, como nenhum método para superar a dormência foi utilizado nesse experimento, os VPC foram baixos. Além disso, possivelmente a baixa qualidade das sementes utilizadas pode ter contribuído também para estes resultados. Soma-se a este fato que o VPC foi gerado com apenas dez e sete dias, para o Panicum e Brachiarias, respectivamente. O que não permite alegar que as sementes germinariam, pois este teste se constituiu em um teste preliminar que poderia apenas nos indicar, na prática, qual cultivar teria maior velocidade de germinação e potencial de cobrir a área mais rapidamente.

**Tabela 1.** Valores médios para o vigor de primeira contagem inoculado (VPCI, %), valores de primeira contagem não inoculado (VPCNI, %), condutividade elétrica (CE, μS.cm<sup>-1</sup>. g <sup>-1</sup>), peso de mil sementes (P1000, g) e teor de água (TA, %) para sementes das diferentes cultivares de gramíneas, inoculadas ou não com Azospirillum brasiliense.

Cultivares	TESTES				
	VPCI (%)	VPCNI (%)	CE (µS.cm <sup>-1</sup> . g <sup>-1</sup> )	P1000 (g)	T.A. (%)
Massai	25,5 Aa1	13,5 Aa	3662 A	0,4 C	6,75
Marandu	7,32 Ba	4,75 Aa	152,7 B	1,8 B	6,0
Tupi	3,87 Ba	12,0 Aa	84,0 B	0,4 C	7,0
<u>Xaraés</u>	3,02 Ba	8,55 Aa	76,7 B	2,3 A	10,6
CV (%)	64	48	57,7	2,3	-

Médias seguidas com as mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Em relação às cultivares, observou-se que as sementes do capim Massai apresentaram maior VPC (P<0,05) em

relação as demais cultivares por ocasião da inoculação. O gênero Panicum apresenta como mecanismo de

dormência, a dormência primária ou inata que é adquirida quando a semente ainda esta ligada à planta mãe. A dormência de sementes apresenta peculiaridades para as diferentes espécies, por isso não é possível generalizar sobre suas causas, as quais podem ocorrer isolada simultaneamente ou, ainda, combinadas, como acontece com as aramíneas forrageiras.

Possivelmente, as sementes do capim Massai permitiram maiores e mais rápida absorção de água e ar, como pode ser comprovada pela condutividade elétrica CE (3662 µS.cm-1. g-1) de suas sementes em relação as Esse valor alto de CE demais. ocasionado pela incrustração (sementes incrustadas), material inerte ter sido dissolvido. Este resultado alto de CE acrescentado à altas taxa de VPC contraditório ao normalmente encontrado na literatura, pois, geralmente, sementes apresentam maior condutividade elétrica tendem a ser de pior qualidade. Valores elevados de CE indicam que a membrana celular da semente danificada e, em ambiente líquido, ocorre a perda de solutos, sais, ácidos e água para o meio, interferindo na qualidade e semente, resultando vigor diminuição da taxa de germinação. Em sementes de sorgo Ribeiro, E.B. (2012), observou que os menores valores de condutividade elétrica foram apresentados em sementes com maior teor de áqua.

aumento no valor de 0 condutividade elétrica, em função da diminuição do teor de água das sementes está relacionado com o processo de reorganização das membranas celulares, em função da reidratação da semente (Barbosa et. al., 2012). Quanto menor o teor de água da semente, maior o estado de desorganização da membrana celular, logo, maior o tempo necessário para que reorganização desta, ocorra consequentemente, redução da lixiviação, quando comparada a sementes com maior teor de água. (Bewley & Black, 1985). Esse maior tempo para a semente se reorganizar indica que mais solutos foram perdidos (lixiviados) influenciando negativamente a taxa de vigor e germinação.

Cicero (1986) relatou que existem evidências de que sementes de Panicum spp. e de Brachiaria spp. apresentam combinação de causas, quais sejam: embriões imaturos, impermeabilidade a gases e inibidores de germinação. Usberti (1981) trabalhando com vários lotes de P. maximum cv. Colonião, relatou que houve aumento da porcentagem velocidade de germinação das sementes que receberam pré-tratamento com o referido ácido. Salienta-se que neste experimento não foi realizado qualquer tipo de tratamento para superação de dormência nas sementes avaliadas. O rompimento da cobertura (glumas) da espigueta com ácido sulfúrico tem sido estudado por vários autores que vêm se empenhando em avaliar a eficiência desse tratamento. Estudos realizados com sementes do gênero Brachiaria demonstraram que os envoltórios (gluma, pálea e lema) constituem uma barreira para germinação (Voll et al. Portanto, se fazem necessários métodos para superação de dormência em ambos os aêneros estudados.

inoculação com Azospirillum brasiliense não promoveu (P>0.05)alterações nos VPC de todos o cultivares. Isso se deve, possivelmente, ao fato de que segundo estudo realizado por Cassán et al., (2009) a inoculação de sementes com A. brasilense pode promover incrementos na biomassa de plântulas durante o estágio inicial do desenvolvimento. Isso se deve, em parte, ao desenvolvimento diferencial do embrião induzido pelos reguladores de crescimento produzidos pela bactéria, aue penetram tegumento da semente junto com a água, acelerando o crescimento da radícula e potencializando sua capacidade absorção. Mas não atuando diretamente no processo de germinação. No caso, do presente trabalho, talvez pela impermeabilidade do tegumento entrada de solutos.

Em relação à avaliação do peso de mil sementes (P1000, g), observa-se que as

cultivares de B. brizantha cv. Xaraés e Marandu possuem sementes maiores (P<0,05) que as das demais cultivares avaliadas, apresentando valores de 2,3 e 1,8 g/1000 sementes, respectivamente. Estes valores estão muito abaixo dos tradicionalmente observados para estas cultivares como os dados relatados por Peres, (2013), que analisando o manejo em campos de produção de Brachiaria, observou que o peso de mil variou de 4,144g a 4, 304g. No referente estudo foi relatado que o peso das sementes diminuiu à medida que avançou a época de colheita. Ainda com Brachiaria, Hessel, et. al., (2012) avaliando a mesa densimétrica e aualidade de sementes constatou que os valores do peso de mil variou de 5,6 g a 11,5 g, esse fato revelou as diferenças significativas entre as diferentes posições do eixo terminal da mesa densimétrica, concluindo que a fração da parte baixa foi 50% inferior que a fração da parte alta. Neste sentido, é interessante destacar que a superioridade do peso de mil sementes pode ser relacionada ao maior potencial fisiológico, sendo que ao estudarem a qualidade física e fisiológica de sementes de soja, Barbosa et al. (2010) observaram que sementes maiores e com maior peso de mil atingiram maior expressão do vigor durante o armazenamento. Fato esse que pode ter colaborado para um baixo desempenho de vigor no experimento. Já os valores para Panicum maximum e B. humidicola se comportaram de acordo com o esperado, corroborando com o estudo realizado por Gomes et.al., (2008) que estudando a qualidade de sementes de P. maximum cv Tanzânia humidicola relatou o peso de mil para essas duas cultivares como 0,11 g e 0,43 g respectivamente, não diferindo estatisticamente dos valores descritos no presente estudo.

Os teores de água (%) observados para as sementes avaliadas podem ser considerados como normais e indicam que elas estavam com umidade adequada para serem utilizadas. Estes valores são semelhantes ao encontrados por Previero et al.,(1998) trabalhando com sementes de Brachiaria brizantha concluíram que as

sementes com teores de água inicial de 10-11% e 6-7% apresentaram boa armazenabilidade e que as sementes com 6-7% apresentaram melhores índices de germinação. Valores entre 5 e 11% são aceitos e considerados adequados.

## Conclusão

A inoculação do produto AZO TOTAL, com a bactéria Azospirillum brasilense não afetou os valores de germinação de primeira contagem das cultivares Marandu, Xaraés, Tupi e Massai.

A cultivar Massai possui maior velocidade de germinação em relação as demais cultivares em ambos os tratamentos. Sendo o maior valor de VPC apresentado no tratamento com inoculação.

## Referências

BARBOSA, C.Z.R.; SMIDERLE, O.J.; ALVES, J.M.A.A.; VILARINHO, A.A.; SEDIYAMA, T. Qualidade de sementes de soja BRS Tracajá colhidas em Roraima em função do tamanho no armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.1, p.73-80, 2010.

BARBOSA, R.M.; SILVA, C.B.; MEDEIROS, M.A.; CENTURION, M.A.P.C.; VIEIRA,R.D. Condutividade elétrica em função do teor de água inicial de sementes de amendoim. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p.45-51, 2012.

BALDANI, J.I., BALDANI, V.L.D., SAMPAIO, M.J.A.M., DÖBEREINER, J. A fourth azospirillum species from cereal roots. **Anais da Academia Brasileira de Ciência** 56: 365. 1984.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 367p. 1985.

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

CASSÁN, F.; MAIALE, S.; MASCIARELLI O.; VIDAL, A.; LUNA, V.; RUIZ, O. Cadaverine production by Azospirillum brasilense and its

possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. **European Journal of Soil Biology**, Montrouge, v.45, n.1, p.12–19, 2009.

CICERO, S.M. Dormência de sementes. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1986, Piracicaba. **Anais.** Campinas: Fundação Cargill, p.41-73. 1986.

GOMES, D. P.; SILVA, G. C.; CAVALCANTE, M. R.; SILVA, A. C.; CÂNDIDO, C. S.; MACHADO, K. K. G.; RÊGO, A. S. Qualidade de sementes de Panicum maximum cv. Tanzânia e Brachiaria humidicola. In: Encontro Latino Americano De Iniciação Científica, 12., Encontro Latino Americano De Pós Graduação- Universidade Vale do Paraíba- São José dos Campos: Univap, p. 1-3. 2008.

ORTOLANI, D.B.; USBERTI, R. Problemas de análise em sementes de gramíneas forrageiras. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.3, n.2, p.79-92, 1981.

HESSEL, F. O.; CARVALHO JUNIOR, O. A.;GOMES, R. A. T.; MARTINS, E. S. & GUIMARÃES, R. F. Dinâmica e sucessão dos padrões da paisagem agrícola no município de Cocos (Bahia). **RA´E GA**, v. 26, p.128-156, 2012.

PIRES, J.C. Superação de dormência através do envelhecimento precoce em sementes de Brachiaria brizantha Stapf. 1992. 88f. Dissertação (Mestrado em

Agronomia) Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 1992.

PREVIERO, C.A.; GROTH, D.; RAZERA, L.F. Dormência desementes de Brachiaria brizantha (Hochst. ex A.Rich) Stapf armazenadas com diferentes teores de água em dois tipos de embalagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2,p.392-397, 1998.

SAS - STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS. System for Microsoft Windows, Release 9.1, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, - CD ROM- 2003 USBERTI, R. Nova metodologia para testes de germinação de sementes de capim colonião. **Casa da Agricultura**.v.3, n.1, p.12-16.1981.

VENDE BROEK, A. VANDERLEYDEN, J. The genetics of Azospirilun-plant root association. **CRC critical reviews in plant science**, Boca Raton, v.14, p.455-466, 1995.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, cap.4, p.1- 26. 1999.

VOLL, E.; KARAM, D.; GAZZIERO, D.L.P. Dinâmica de populações trapoeraba (Commelina benghalensis L.) sob manejos de solo e de herbicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, p.571-578, 1997.