

Produção de mudas de eucalipto com utilização de microrganismos fixadores de N e solubilizador de P na semente

Felipe Bottini Barboza^{1*}, Augustinho Borsoi¹

¹ Curso de Agronomia, Centro Universitário Assis Gurgacz (FAG), Cascavel, Paraná.

* fbbarboza@fag.edu.br

Resumo: O eucalipto tem extrema importância na produção de madeira sustentável no Brasil, com isso a produção de mudas de qualidade leva a ter uma melhor uniformidade no plantio e maior potencial de produção de madeira. Desta forma a utilização de produtos biológicos podem trazer grandes benefícios aos viveiros e aos produtores. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes tipos de inoculantes sobre a produção de mudas de *Eucalipto grandis*. O experimento foi realizado em ambiente protegido, no Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, na cidade de Cascavel – PR, durante os meses de fevereiro a maio de 2022. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com cinco tratamentos, utilizando diferentes inoculantes nas sementes e quinze repetições, sendo que cada unidade experimental foi composta por uma planta. Os tratamentos avaliados foram: T1 – sem inoculação; T2 – *Rizobium tropici*; T3 – *Azospirillum brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6; T4 – *Pseudomonas fluorescens* e T5 – *Bradyrhizobium japonicum*. Os parâmetros avaliados foram o volume da raiz, comprimento da raiz, altura de planta, diâmetro do caule, massa verde e seca. Houve diferença estatística para as variáveis de volume de raiz, comprimento da parte aérea, diâmetro do caule, massa verde e massa seca. Já para comprimento de raiz não houve diferença estatística entre os tratamentos. A inoculação de sementes de eucalipto melhorou a qualidade de mudas de *E. grandis*, com destaque para T2 (*R. tropici*), T3 (*A. brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6) e T5 (*B. japonicum*), nas condições estudadas.

Palavras-chave: *Bradyrhizobium japonicum*; *Eucalipto grandis*; *Pseudomonas fluorescens*.

Production of eucalyptus seedlings using N-fixing and P-solubilizing microorganisms in the seed

Abstract: Eucalyptus is extremely important in the production of sustainable wood in Brazil, so the production of quality seedlings leads to better planting uniformity and greater potential for wood production. In this way, the use of organic products can bring great benefits to nurseries and producers. This work aimed to evaluate the effect of different types of inoculants on the production of *Eucalyptus grandis* seedlings. The experiment was carried out in a protected environment, at the Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, in the city of Cascavel - PR, from February to May 2022. The experimental design used was completely randomized (DIC) with five treatments, using different inoculants in the seeds and fifteen repetitions, and each experimental unit was composed of one plant. The evaluated treatments were: T1 – without inoculation; T2 – *Rizobium tropici*; T3 – *Azospirillum brasilense* Strains AbV5 and AbV6; T4 – *Pseudomonas fluorescens* and T5 – *Bradyrhizobium japonicum*. The evaluated parameters were root volume, root length, plant height, stem diameter, green and dry mass. There was statistical difference for root volume, shoot length, stem diameter, green mass and dry mass variables. As for root length, there was no statistical difference between treatments. Inoculation of eucalyptus seeds improved the quality of *E. grandis* seedlings, with emphasis on T2 (*R. tropici*), T3 (*A. brasilense* Strains AbV5 and AbV6) and T5 (*B. japonicum*), under the conditions studied.

Keywords: *Bradyrhizobium japonicum*; *Eucalipto grandis*; *Pseudomonas fluorescens*.

Introdução

A utilização de inoculantes biológicos pode viabilizar a produtividade em propriedades rurais por utilizar bactérias *on farm*, com uma menor contaminação do meio ambiente, pois diminui a utilização do uso de químicos. Além de reduzir a dependência de fertilizantes químicos ainda podem ajudar no desempenho germinativo e no vigor das plantas.

O eucalipto pertence da família Mirtáceas sendo nativo da Austrália, é a espécie florestal comercial mais plantada no Brasil, pela sua fácil adaptação a diferentes tipos de solos e climas, portanto nas diferentes regiões. Além da sua adaptabilidade, a grande produtividade e os diferentes usos da madeira fazem dessa espécie a mais importante comercialmente para o país, sendo a espécie *Eucalyptus grandis* amplamente utilizada comercialmente (VALVERDE, 2012). Independente do destino final, uma muda de qualidade vai resultar em florestas mais produtivas e sustentáveis.

Os silvicultores que trabalham com a produção de mudas precisam ter vários aspectos a ser levados em consideração para que esta tenha qualidade. Assim, escolha da técnica na produção das mudas, escolha da instalação dos viveiros, infraestrutura do local para elas se desenvolverem e ter um manejo rígido nesse período é fundamental. (CALDEIRA *et al.*, 2016).

Na produção de mudas de eucalipto podemos fazer de duas formas, como semeadura e germinação de sementes ou utilizar a técnica de propagação vegetativa, mais conhecida como clonagem. Dessa forma, a semeadura pode ajudar no processo de melhoramento genético das cultivares, pois já a propagação vegetativa pode ser feita através da estaquia que poderá ter um melhor controle sobre as características de determinada árvore ou espécies e são indicadas para produtores de madeira (OLIVEIRA; PINTO JUNIOR, 2021).

Para uma muda ter qualidade a adubação é um dos fatores mais importantes. Para a nutrição adequada de mudas de eucalipto certos de manejos e cuidados são necessários. A utilização da adubação através da irrigação do viveiro, homogeneizando o adubo com a água ou pode ser feita através utilizando diversos fertilizantes químicos. O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para produção de mudas, sendo fornecido geralmente utilizado uréia (BITENCOURT; DEKNES; ANTÔNIO LAURA, 2022).

Em culturas como soja e milho a utilização de bactérias para fornecer N as plantas e melhorar a absorção de nutrientes já é usual e comprovada cientificamente. O uso da bactéria *Azospirillum brasiliense* por exemplo tem como característica promover o aumento do sistema radicular das plantas e aumentando sua área no solo, com isso, a absorção de nutrientes das plantas pode ser maior (TOCHETO, BOIAGO, 2020).

Já o uso da bactéria *Rhizobium tropici* tem a característica de estimular a produção de nódulos e maior fixação de N da atmosfera. Dessa forma, esse processo é chamado como fixação biológica de nitrogênio (HAMMES, 2021). O uso da bactéria *Bradyrhizobium japonicum* também tem como característica ajudar na fixação de nitrogênio em simbiose com a raiz da planta (SANTOS, 2013).

A bactéria *Pseudomonas fluorescens* em resumo tem como característica melhorar o desenvolvimento vegetativo, com habilidade essencial em melhorar a nutrição fosfatada das plantas pela solubilização de fosfato inorgânico (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Além disso, as bactérias têm a capacidade de crescer associadas às plantas e o solo, dessa forma, eliminar excretas metabólicas e promover o crescimento radicular (VIEIRA, 2015). Portanto algumas bactérias ajudam na fixação de N, consigo fornece uma maior produtividade de grãos e maior controle de patógenos malignos presentes no solo, o crescimento vegetativo mais uniforme e uma germinação mais rápida pois uma melhor captação de nutrientes do solo (SIMÕES *et al.*, 2018).

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo de avaliar a produção de mudas de eucalipto com diferentes tipos de inoculantes biológicos aplicados na semente.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nos dias 23 de fevereiro até 23 de maio, na casa de vegetação no Centro de Desenvolvimento e Difusão de Tecnologias – CEDETEC, está localizada em Cascavel-PR, na instituição Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG, localização geográfica de latitude -24.942241'' S, longitude -53.510855'' W e a característica do clima dessa região segundo a classificação de Köppen-Geiger, possui clima subtropical úmido CFa (APARECIDO *et al.*, 2016).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC, com cinco tratamentos e quinze repetições, totalizando 75 unidades experimentais, sendo que cada unidade experimental foi composta por um tubete, onde foi semeado quatro sementes e quando as plântulas estavam com 2 folhas houve o raleio para deixar apenas uma planta. Os tratamentos foram com dosagem dez vezes mais do que recomendado na bula (visto que não havia recomendação para esta espécie) de diferentes inoculantes aplicados em sementes de *Eucalipto grandis*, sendo: T1 – testemunha (sem inoculação); T2 – *Rhizobium tropici*; T3 – *Azospirillum brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6; T4 – *Pseudomonas fluorescens*; T5 – *Bradyrhizobium japonicum*.

No preparo da na inoculação foi feito uma regra de três simples, pois na bula dos inoculantes a recomendação era de 1 L para 50 kg de sementes, mas precisava só apenas para 1 g, dessa forma 0,1 mL para 1 g de semente com uma dose 10 vezes mais do que o recomendado.

A semeadura foi realizada manualmente, com quatro sementes por tubetes e depois foi feito o raleio deixando apenas uma planta, após todos os tubetes com as medidas de 120 cm³, foram cobertos por substrato comercial para produção de mudas. Após 20 dias foi realizada a adubação das mudas com um irrigador de mão contendo um litro de água e dez gramas de NPK 10-15-15. Os tubetes foram acondicionados em bandejas plásticas e colocadas em bancada dentro da estufa recebendo irrigação diária.

Os parâmetros avaliados foram o volume da raiz, onde com auxílio de uma proveta contendo água foi medido o volume das raízes (mL). O comprimento da raiz foi medido com auxílio de uma trena graduada em centímetros. Para a altura das mudas de eucalipto foi considerado do substrato até ápice da planta. O diâmetro do caule (mm) foi medido com paquímetro acima do substrato. Para quantificação da massa verde foram pesadas as plantas em balança semi-analítica e após secas em estufa por 72 h a 65 °C para determinação da massa seca.

Após obtidos os dados, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e, quando significativo, as médias comparadas pelo teste de Duncan ao nível de 5 % de significância, com o auxílio do programa GENES (CRUZ, 2016).

Resultados e Discussão

Os p-valores a 5 % de significância em relação aos parâmetros avaliados mostra que os tratamentos influenciaram estatisticamente ($p < 0,05$) somente os parâmetros volume da raiz, altura de planta e diâmetro do caule (Tabela 1), já nos parâmetros comprimento de raiz não são influenciados significativamente ($p > 0,05$).

A comparação de médias pelo teste de Duncan a 5 % de significância para o volume de raiz mostra que T2 (*Rizobium tropici*) obteve o melhor resultado estatisticamente, diferindo dos demais. Os tratamentos T1 (sem aplicação), T3 (*Azospirillum brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6), T4 (*Pseudomonas fluorescens*) e T5 (*Bradyrhizobium japonicum*) foram semelhantes estatisticamente, com o volume de raiz inferior.

Segundo Fernandes *et al.* (2017) este estímulo de melhor crescimento e absorção de nutrientes ajuda as mudas ter um melhor desenvolvimento e aumenta sua capacidade de sobrevivência das mudas em campo.

Todos os tratamentos foram semelhantes estatisticamente, não apresentou diferença na formação das raízes, provavelmente ocorreu a poda aérea das raízes naturalmente, devido ao tamanho dos recipientes pois as raízes ficaram fora do substrato e perdera o oxigênio e ocorreria a poda naturalmente.

Segundo Finér *et al.* (2011) essas variáveis, refletem na morfologia de raízes finas e os mecanismos de resposta da planta à variação da disponibilidade de água e nutrientes que estará presente no solo.

Tabela 1- Resumo de análise de variância e medias de volume de raiz, comprimento da raiz (cm), altura de planta (cm) e diâmetro do caule (mm) em função da aplicação de inoculantes.

Tratamentos	Volume da raiz (mL)	Comprimento da raiz (cm)	Altura de planta (cm)	Diâmetro do caule (mm)
T1	0,41 b	24,40 a	12,10 b	1,61 c
T2	0,51 a	24,17 a	16,87 a	2,14 a
T3	0,35 b	24,57 a	16,63 a	1,99 a
T4	0,37 b	24,00 a	13,10 b	1,68 bc
T5	0,39 b	24,47 a	17,03 a	1,91 ab
CV (%)	31,63	3,76	23,03	14,60
p-valor (%)	0,79*	100 ns	0,01*	0,0*
DMS	0,1	0,74	2,82	0,28

*, ns: significativo e não significativo. Médias seguidas de mesma letra não se diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância; CV = coeficiente de variação; DMS = diferença mínima significativa; tratamentos T1- sem aplicação, T2- *Rizobium tropici*, T3- *Azospirillum brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6), T4- *Pseudomonas fluorescens* e T5- *Bradyrhizobium japonicum*.

Quanto ao comprimento da parte aérea o T5 (*B. japonicum*) apresentou a maior média (17,03 cm), sendo igual estatisticamente ao T2 (*R. tropici*) e T3 (*A. brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6), diferindo de T1 (sem aplicação) e T4 (*P. fluorescens*) que apresentaram a menor média.

Araújo *et al.* (2010) relata que as mudas de espécies florestais da família Fabaceae é condicionado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento em plantas, favorecendo o aumento da nodulação, fixação biológica de N, e crescimento das plantas dessa família botânica.

No diâmetro do caule em T2 (*R. tropici*) se destacou com a melhor média, apresentou semelhança estatisticamente os tratamentos T3 (*A. brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6) e T5 (*B. japonicum*), dessa forma o T5 (*A. brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6) teve semelhança estatisticamente com o tratamento T4 (*P. fluorescens*), por último o tratamento T4 (*P. Fluorescens*) e T1 (sem aplicação) foram semelhantes entre si com menor valor da espessura do caule.

Os p-valores a 5 % de significância em relação aos parâmetros avaliados massa seca e massa verde (Tabela 2) mostra que houve diferença entre os tratamentos para massa verde e massa seca.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância e médias de massa verde e massa seca em função da aplicação em diferentes tipos de inoculantes.

Tratamentos	Massa verde (g/planta)	Massa seca (g/planta)
T1	1,05 b	0,15 b
T2	2,14 a	0,6 a
T3	1,77 a	0,45 a
T4	1,06 b	0,57 a
T5	1,79 a	0,49 a
CV (%)	23,04	33,72
p-valor	0,02*	0,12*
DMS	1,57	0,6

*, ns: significativo e não significativo. Médias seguidas de mesma letra não se diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância; CV = coeficiente de variação; DMS = diferença mínima significativa; tratamentos T1- sem aplicação, T2- *Rizobium tropici*, T3- *Azospirillum brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6, T4- *Pseudomonas fluorescens* e T5- *Bradyrhizobium japonicum*.

A comparação de médias pelo teste de Duncan a 5 % de significância para massa verde mostra que T2 (*R. tropici*) obteve o melhor resultado (2,14 g/planta), porém foi semelhante estatisticamente ao T3 (*A. brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6) e T5 (*B. japonicum*), diferindo dos demais tratamentos T1 (sem aplicação) e T4 (*P. fluorescens*).

Quanto a massa seca de planta, a aplicação de inoculantes resultou em maior massa quando comparado com o T1 sem inoculação, não diferindo estatisticamente entre eles. Ocorreu incremento de mais de 3 vezes na massa seca das plantas quando inoculadas, indicando melhor absorção de nutrientes e desenvolvimento da muda. Mudanças com maior diâmetro e massa tendem a ser mais resistentes a campo, com maior sobrevivência e desenvolvimento inicial.

Segundo Bitencourt *et al.* (2022) as características morfológicas, altura, diâmetro do coleto, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz, fornecem uma excelente estimativa da predição do crescimento inicial e sobrevivência dessas mudas no campo após plantio.

Conclusão

A inoculação de sementes de *Eucalyptus grandis* melhorou a qualidade de mudas produzidas, com destaque para T2 (*Rizobium tropici*), T3 (*Azospirillum brasilense* Estirpes AbV5 e AbV6) e T5 (*Bradyrhizobium japonicum*), nas condições estudadas.

Referências

ARAÚJO, A. S. F.; CARNEIRO, R. F. V.; BEZERRA, A. A. C.; ARAÚJO, F. F. Coinoculação *rizóbio e Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N₂ e o crescimento das plantas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p.182-185, 2010.

APARECIDO, L. E. O.; ROLIM, G. S. RICHETTI, J.; SOUZA, P. S.; JOHANN, J. A.; Köppen, Thornthwaite and Camargo climate classifications for climatic zoning in the State of Paraná, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 4, p. 405-417, 2016.

BITENCOURT, G. A.; DEKNES, L. B.; ANTÔNIO LAURA, V. Crescimento de mudas de eucalipto em solo com aplicação do lodo de curtume. **Scientia Plena**, v. 18, n. 3, 2022.

CALDEIRA, M. V. W.; DE OLIVEIRA GONÇALVES, E.; WENDLING, I.; MARTINS, R. D. C. C. **Produção de mudas. Silvicultura do Eucalipto no Brasil**. Editora UfSM, Santa Maria, RS, p.47-80, 2016.

CRUZ, C. D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.

OLIVEIRA, M. A.; ZUCARELI, C.; FERREIRA, A. S.; DOMINGUES, A. R.; SPOLAOR, L. T.; NEVES, C. S. Adubação fosfatada associada à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* no desempenho agronômico do milho. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38 n. 1, p. 18-25, 2015.

OLIVEIRA, E. B. de; PINTO JUNIOR, J. E. (Ed.). **O eucalipto e a Embrapa: quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento**. Brasília, DF: Embrapa, 2021. cap. 22.

FERNANDES, M. R. M.; NÓBREGA, R. S. A.; FERNANDES, M. M.; SOUSA, W.C.; JOSÉ FILHO, F. L. Substratos e inoculação com *Bradyrhizobium* no crescimento de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) em área degradada. **Revista Agrarian**, v. 10 n. 35, p. 52-60, 2017.

FINÉR, L.; OHASHI, M.; NOGUCHI, K.; HIRANO, Y. Fatores que causam variação na biomassa de raízes finas em ecossistemas florestais. **Forest Ecology and Management**, v. 261, n. 2, p. 265-277, 2011.

HAMMES, C. F. **Inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada em diferentes cultivares de feijão na Região das Missões-RS**. 2021. Disponível em: <<https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/4225/1/HAMMES.pdf>>. Acesso 25/03/2022.

SANTOS, A. D. D. **Viabilidade da inoculação de sementes de soja com produtos comerciais a base de *Bradyrhizobium japonicum* antes da semeadura**. Trabalho de conclusão de curso -

Universidade Federal do Paraná-setor Palotina, Curso Superior de Tecnologia em biotecnologia. 2013.

SIMOES, W. L.; OLIVEIRA, A. R. de; REIS, V. M.; PEREIRA, W.; LIMA, J. A. Aplicação de bactérias diazotróficas via sistema de irrigação para fixação biológica de nitrogênio na cana-de-açúcar. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 33, n. 1, p. 45-51, jan./mar. 2018.

TOCHETO, G. H. G.; BOIAGO, N. P. Formas de aplicação de *Rhizobium tropici* e *Azopirillum brasiliense* coinoculados na cultura do feijão. **Revista Cultivando o Saber**, v. 13, n. 2, p. 37-48, 2020

VALVERDE, S. R.; MAFRA, J. W. A.; MIRANDA, M. A. S.; SOUZA, C. S.; VASCONCELOS, D. C. **Silvicultura brasileira: oportunidades e desafios da economia verde**. Rio de Janeiro: Fundação Brasileira para o Desenvolvimento Sustentável, 2012. 39 p

VIEIRA, J. A. C. **Bactérias endofíticas de milho e seu potencial como promotoras de crescimento vegetal e agentes de controle biológico**. 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/33825/1/JoaoAntonioCortesVieira_DissertacaoMESTRADO.pdf>. Acesso em: 01/04/2022.