

## Fitotoxicidade de mesotriona em milho inoculado com *Azospirillum brasilense* associado a adubação nitrogenada

Lucas Guilherme Bulegon<sup>1</sup>, Adriano Mitio Inagaki<sup>1</sup>, Gustavo Moratelli<sup>1</sup>,  
Neumárcio Vilanova da Costa<sup>1</sup>, Vandeir Francisco Guimarães<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Rua Pernambuco, 1777, Centro, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon-PR, Brasil. E-mail: lucas\_bulegon@yahoo.com.br; mitioinagaki@gmail.com; gustavo.moratelli@gmail.com; neumarciovc@hotmail.com; vandeirfg@yahoo.com.br

### RESUMO

Este estudo objetivou avaliar a fitotoxicidade do herbicida mesotriona no desenvolvimento inicial do milho inoculado com *Azospirillum brasilense*, associado à adubação nitrogenada. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 2x3, representado por milho com e sem aplicação do mesotriona (192 g ha<sup>-1</sup>) e os tratamentos: 1-inoculação das sementes com *A. brasilense*; 2-aplicação em cobertura de 140 kg ha<sup>-1</sup> de N; e 3- *A. brasilense* + 140 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura aplicado aos 26 dias após a semeadura (DAS). A aplicação do mesotriona foi realizada aos 21 DAS, com avaliações realizadas por 28 dias após a aplicação (DAA). Aos 7 DAA constatou-se redução da taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> em 35% nas plantas que receberam aplicação de mesotriona, bem como aumento da atividade da peroxidase e maior degradação de carotenoides. Aos 14 DAA de mesotriona resultou em redução na taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> e na transpiração, enquanto aos 28 DAA foi verificado menor altura de plantas, área foliar e massa seca de parte aérea nas plantas com herbicida. A inoculação com *A. brasilense* + N elevou a atividade das peroxidases aos 7 DAA e auxiliou a manutenção da taxa transpiratória aos 14 DAA. Conclui-se que a inoculação com *A. brasilense* + N pode minimizar os efeitos danosos causados pelo mesotriona no desenvolvimento inicial do milho.

**Palavras-chave:** bactérias promotoras de crescimento vegetal; herbicida; inibidor dos carotenoides; trocas gasosas

## *Phytotoxicity of mesotriona in corn with Azospirillum brasilense associated nitrogen fertilization*

### ABSTRACT

This study aimed to evaluate the phytotoxicity of the mesotrione herbicide in the initial development of maize inoculated with *Azospirillum brasilense* and associated with nitrogen fertilization. The treatments were: randomized blocks in a 2x3 factorial scheme, represented by maize with and without mesotrione application (192 g ha<sup>-1</sup>) and treatments: 1-inoculation of the seeds with *A. brasilense*; 2-Application in coverage of 140 kg ha<sup>-1</sup> of N; And 3- *A. brasilense* + 140 kg ha<sup>-1</sup> of N in cover applied at 26 days after sowing (DAS). The application of mesotrione was performed at 21 DAS, with evaluations performed up to 28 days after application (DAA). At 7 DAA a reduction of the net assimilation rate of CO<sub>2</sub> in 35% in the plants with mesotrione was observed, as well as increase of the peroxidases activity and greater degradation of carotenoids in the mesotrione plants. At 14 DAA the mesotrione reduced the rate of CO<sub>2</sub> net assimilation and transpiration, while at 28 DAA, lower plant height, leaf area and shoot dry mass were verified in herbicide plants. The inoculation with *A. brasilense* + N increased peroxidase activity at 7 DAA and helped maintain the transpiratory rate at 14 DAA. It is concluded that inoculation with *A. brasilense* + N can minimize the harmful effects caused by mesotrione in the initial development of corn.

**Key words:** bacteria promoting plant growth; herbicide; inhibitor of carotenoids; gas exchange

## Introdução

A cultura do milho (*Zea mays* L.) se destaca entre os grãos mais produzidos no mundo. Contudo, vários fatores limitam sua produtividade, tal como, a interferência causada pelas plantas daninhas. O sombreamento, bem como a competição por água e nutrientes resultam em perdas de 13 a 85% da produção (Gantoli et al., 2013).

Para evitar perdas por matocompetição, a cultura deve ser mantida livre da interferência de plantas daninhas entre 20 a 60 dias após emergência (Kozłowski, 2002). A utilização do controle químico neste período é amplamente requerida, com vasta disponibilidade de herbicidas registrados para a cultura do milho, sendo que dentre esses destaca-se o mesotriona.

O mesotriona foi isolado da planta *Callistemon citrinus* e pertence ao grupo das tricetonas, atuando na inibição da síntese de carotenoides, pela inibição da ação da enzima 4-hidroxifenil-piruvatodioxigenase (Mitchell et al., 2001). Através da capacidade de metabolização rápida da molécula de mesotriona, em moléculas sem atividade herbicida, as plantas de milho apresentam tolerância a este herbicida. O sistema de desintoxicação se torna eficaz pela utilização de transportadores primários de H<sup>+</sup> (Ogliari et al., 2009).

Apesar da tolerância do milho ao mesotriona, a aplicação deste herbicida causa o branqueamento ou amarelecimento em folha novas, devido a fotooxidação das moléculas de clorofila, reduzindo a atividade fotossintética, o que em cultivares menos tolerantes pode resultar na morte do tecido vegetal (Barchanska et al., 2014). Nesse sentido, Ogliari et al. (2014), relatam que a aplicação de mesotriona em plantas de milho reduziu a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> em até 17 μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

A adoção de tecnologias visando reduzir o efeito da fitotoxicidez de mesotriona em cultivares menos tolerantes é desejável. Neste contexto, o uso da inoculação de bactérias promotoras de crescimento, da espécie *Azospirillum brasilense*, pode ser uma alternativa para reduzir a fitotoxicidez em plantas de milho, uma vez que já é conhecida a eficácia desta bactéria em minimizar os efeitos de estresses oxidativos em vegetais (Nia et al., 2012; Slama et al., 2015).

O estresse oxidativo provocado por mesotriona pode ser minimizado pelo *A. brasilense* devido ao estímulo da síntese de pigmentos fotossintéticos (Bashan et al., 2006) e pela sintetização do ácido amino-ciclopropano 1-carboxílico (ACC) deaminase que degrada a ACC, substrato precursor da síntese de etileno (Glick, 2014).

Vale ressaltar que, a fertilização nitrogenada em cobertura, também pode reduzir o estresse oxidativo no milho, uma vez que está complementação nutricional coincide com o momento de aplicação do mesotriona (estádios V<sub>3</sub> a V<sub>6</sub> do milho). Tal condição está associada ao aumento da taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> em até 38% em plantas de cana-de-açúcar (Jin et al., 2015). Este incremento pode estar relacionado à eficiência de desintoxicação e recuperação de plantas de milho tratadas com mesotriona (Ogliari et al., 2009). Estudos envolvendo a combinação da aplicação de mesotriona e nitrogênio não elevaram os níveis de fitotoxicidez no milho (Nicolai et al., 2006).

Desta forma, levanta-se a hipótese de que a inoculação de *A. brasilense*, a adubação nitrogenada em cobertura, ou a associação destas duas tecnologias, pode aumentar a tolerância do milho ao mesotriona, reduzindo a fitotoxicidez, devido à ação de ambas em processos específicos de grande importância nutricional e hormonal, que são influenciados pela ação do mesotriona durante o desenvolvimento da cultura.

Neste contexto, no presente estudo objetivou-se avaliar a fitotoxicidez do herbicida mesotriona no desenvolvimento inicial da cultura do milho inoculado com *A. brasilense*, associado à adubação nitrogenada.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, entre abril a maio de 2016, utilizando-se o milho híbrido simples 30F53<sup>®</sup>, cultivado em vasos com capacidade de 13,5 dm<sup>3</sup>, que receberam cerca de 12 dm<sup>3</sup> de solo proveniente do horizonte A de um LATOSSOLO VERMELHO Eutrófico (Santos et al., 2013), com as seguintes características químicas pH (CaCl<sub>2</sub>): 5,49; P disponível (Mehlich): 13,63 mg dm<sup>-3</sup>; K (Mehlich<sup>-1</sup>): 0,75 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> (KCl 1mol L<sup>-1</sup>): 4,44 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup> (KCl 1mol L<sup>-1</sup>): 1,44 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e Al<sup>+3</sup> (KCl 1mol L<sup>-1</sup>): 0,00 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al (acetato de cálcio 0,5 mol L<sup>-1</sup>): 2,95 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB: 6,63 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V: 69,21%, M.O.: 8,20 g dm<sup>-3</sup> e uma população de bactérias diazotróficas de 2x10<sup>6</sup> UFC g<sup>-1</sup> de solo, determinada pelo método do número mais provável. Para a adubação mineral de fundação foram utilizados 150 mg de N, 150 mg de K<sub>2</sub>O, 200 mg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 170 mg de Ca e 80 mg de S por dm<sup>3</sup> de solo, utilizando-se as fontes ureia (45% de N), cloreto de potássio (60% de K<sub>2</sub>O) e superfosfato simples (18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 16% de Ca e 8% de S), respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 3x2 e quatro repetições, totalizando 24 parcelas experimentais. O primeiro fator representou os tratamentos: adubação nitrogenada com 140 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura, inoculação das sementes com *Azospirillum brasilense*, e a combinação da inoculação com *A. brasilense* + adubação nitrogenada. O segundo fator foi representado pela ausência e a presença da aplicação do herbicida mesotriona.

As sementes de milho foram inoculadas cerca de 30 minutos antes da semeadura utilizando-se inoculante líquido (padrão comercial) a base de *A. brasilense* estripes AbV5 e AbV6 na concentração de 2x10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> na dose de 100 mL para 25 kg de sementes. Na semeadura foram utilizadas 10 sementes por vaso e após a emergência e estabelecimento inicial foi realizado o desbaste, mantendo-se duas plantas por vaso, sendo uma destinada a avaliação enzimática e de pigmentos e a outra para a avaliação biométricas no final do ciclo.

Aos 21 dias após a semeadura (DAS), correspondendo ao estágio V<sub>3</sub> da cultura foi realizado a aplicação do mesotriona (192 g ha<sup>-1</sup>) mais a adição de adjuvante Nimbus a 0,5% v v<sup>-1</sup> (Produto comercial Callisto<sup>®</sup>480 g L<sup>-1</sup>).

Para a aplicação utilizou-se um pulverizador costal, pressurizado com CO<sub>2</sub>, dotado de uma barra de 3 m de largura com seis pontas tipo leque (Magno 11002 ADGA), pressão de trabalho de 2,5 bar (36 psi), vazão de 200 L ha<sup>-1</sup> e altura de

aplicação de 0,5 m acima do ápice das plantas. A adubação nitrogenada de cobertura nos tratamentos foi realizada em aplicação única, aos 5 dias após a aplicação de mesotriona (DAA), correspondendo ao estágio V<sub>4</sub>, utilizando 140 kg ha<sup>-1</sup> de N (ureia com 45% de N).

A avaliação de fitotoxidez visual foi realizada aos 3, 6, 9, 12, 15 e 18 dias DAA, utilizando a escala de nota de 0 a 100%, em que 0% corresponde a ausência de sintomas de fitotoxidez e 100% corresponde a morte da planta, proposta da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD, 1995).

Aos 7 DAA, determinou-se a atividade da peroxidase (POD; EC 1.11.1.7) a 30°C, através do método do espectrofotométrico direto, baseado na oxidação do guaiacol (Hammerschmidt et al., 1982). A atividade da catalase (CAT; EC 1.11.1.6) foi determinada pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio (Havir & Mchale, 1987). Os teores de clorofila *a+b* e carotenoides, foram determinados em solução de acetona 80%, os quais foram acondicionados sob refrigeração e ausência de luz por 72 horas. Após procedeu-se a leitura em espectrofotômetro utilizando-se para clorofila *a* 665 nm, clorofila *b* 649 nm, as quais foram somadas para determinação do teor de clorofila *a+b*, e carotenoides 480 nm (Lichtenthaler & Buschmann, 2001).

As avaliações das trocas gasosas, foram realizadas aos 7 DAA e 14 DAA utilizando-se o equipamento IRGA (*Infra Red Gas Analyser*) modelo LI-6400XT (*Licor Inc. Lincoln, NE*). As leituras foram efetuadas pela manhã entre 09h00min e 11h00min utilizando teor de CO<sub>2</sub> de 380 μmol mol<sup>-1</sup>, sendo a avaliação realizadas na quarta folha totalmente expandida do milho, determinando-se a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*) e taxa de transpiração foliar (*E*).

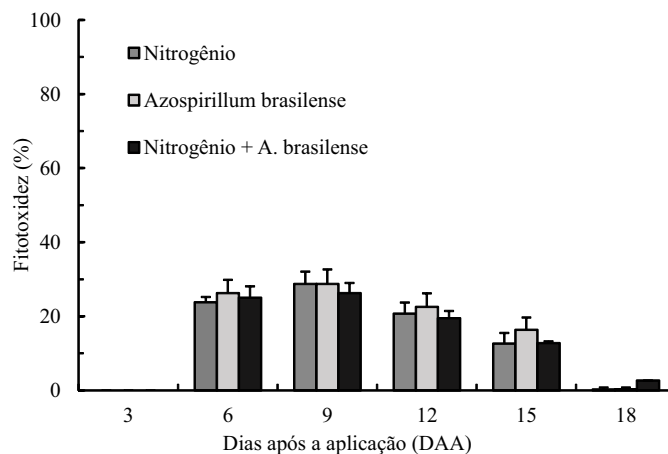
Aos 28 DAA avaliou-se a altura de planta (cm) e a área foliar (cm<sup>2</sup>) com auxílio do equipamento Area Meter LI-3000. Posteriormente, a parte aérea foi levada para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas e após foram determinadas a massa seca em balança de precisão.

Os dados de fitotoxidez foram analisados com bases nos seus desvios padrões em função do tempo de avaliação, e para os demais parâmetros avaliados realizou-se a análise de variância pelo teste F de Fisher a 5% de probabilidade de erro e quando constatado diferença significativa foram avaliados pelo teste de SNK a 5% de significância.

## Resultados e Discussão

Os níveis de fitotoxidez do herbicida mesotriona na cultura do milho não diferiram em função dos tratamentos. Os maiores níveis de fitotoxidez foram observados aos 6 e 9 DAA (Figura 1). Após este período, a fitotoxidez reduziu e atingiu valores próximos de zero aos 18 DAA.

A desintoxicação das plantas de milho a partir de 9 DAA pode ser explicada pela capacidade das plantas em metabolizar as moléculas com ação herbicida, convertendo-as em moléculas inativas que são compartimentalizadas no vacúolo. Além disso deve ser considerado o efeito de diluição do herbicida, que ocorre em função do crescimento e desenvolvimento da planta (Godar et al., 2015). Estes resultados corroboram com os obtidos por Dan et al. (2011), em trabalhos de seletividade do



**Figura 1.** Fitotoxidez de mesotriona em plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* e associada a adubação nitrogenada, após a aplicação do mesotriona.

mesotriona, utilizando a mesma doseagem deste estudo (192 g ha<sup>-1</sup>) em *Brachiaria brizantha*.

Outro ponto a ser considerado na desintoxicação refere-se à ação da enzima peroxidase (POD), no sistema antioxidativo, resultando em remoção de espécies reativas de oxigênio (ERO's). No presente estudo foi demonstrado aumento de 97,83% na atividade da POD em plantas com presença de mesotriona. A ação desta enzima evita a peroxidação lipídica e a degradação celular (Barbosa et al., 2014), corroborando com os valores obtidos em estudos com herbicidas seletivos, como o 2,4-D na cultura do trigo (Agostinetto et al., 2017) e o pré-emergente oxadiazon na cultura do arroz (Langaro et al., 2016).

Para os tratamentos, verificou-se que a aplicação do mesotriona aumentou em 71,1% e 52,4% a atividade da POD no milho com N e *A. brasilense* + N, respectivamente, em relação aos respectivos tratamentos sem aplicação do herbicida. Não houve diferença estatística entre o milho apenas inoculado com *A. brasilense* com e sem aplicação do mesotriona (Tabela 1).

Estes resultados evidenciam o potencial da inoculação com *A. brasilense*, associado à adubação nitrogenada, visando a proteção da planta de milho contra os efeitos danosos da intoxicação causada pelo mesotriona (inibidor da síntese dos carotenoides). Isso principalmente pela ação da POD nos cloroplastos (Huseynova, 2012) e na remoção de ERO's produzidas pela fotoinibição (Uzilday et al., 2012).

A Catalase (CAT) não foi influenciada pelos tratamentos avaliados (Tabela 1). Pode-se inferir, pela ausência de alterações na atividade da CAT, que os danos oxidativos causados pela fitotoxidez do mesotriona não atingiram níveis críticos, uma vez que a CAT possui maior capacidade de remoção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em comparação com a POD (Gill & Tuteja, 2010; Sharma et al., 2012).

O herbicida mesotriona atua na biossíntese de carotenoides, inibindo, nos cloroplastos, a ação da enzima 4-hidroxifenil-piruvatodioxigenase. Como consequência, ocorrem sintomas de branqueamento das folhas, mesmo em culturas tolerantes como o milho (Mitchell et al., 2001). Entretanto, os teores de clorofilas *a+b* não foram influenciados pela aplicação do mesotriona, havendo redução nos teores destes pigmentos

**Tabela 1.** Atividade das enzimas peroxidase (POD) e catalase (CAT) em plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* e/ou adubada com nitrogênio aos sete dias após a aplicação do mesotriona.

Tratamentos	Peroxidase (U enzima g <sup>-1</sup> MF <sup>-1</sup> )		Catalase (U enzima g <sup>-1</sup> MF <sup>-1</sup> )	
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Com mesotriona	Sem mesotriona
<i>A. brasilense</i>	75,950 bA	93,211 aA	19,300	16,350
Nitrogênio (N)	157,216 aA	45,41 aB	16,525	15,566
<i>A. brasilense</i> + N	195,806 aA	93,211 aB	14,400	14,700
	142,990 A	77,277 B	16,471	15,538

Valores de quadrado médios		
Fonte de variação	Peroxidase	Catalase
Bloco	917,41 <sup>NS</sup>	45,40 <sup>**</sup>
Adubação (A)	3765,77 <sup>NS</sup>	4,79 <sup>NS</sup>
Herbicida (H)	35546,84 <sup>**</sup>	0,38 <sup>NS</sup>
AxH	13624,33 <sup>**</sup>	2,82 <sup>NS</sup>
Resíduo	1389,88	11,96
CV%	35,67	18,25

Letras semelhantes minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo Teste SNK a 5% de probabilidade. \*\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; <sup>NS</sup> não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

apenas quando se aplicou N em cobertura. O teor de carotenoides totais nas folhas de milho foi reduzido em 35,2% nas plantas que receberam aplicação de mesotriona comparado às plantas controle sem aplicação de mesotriona (Tabela 2).

Em relação aos pigmentos fotossintéticos, era esperado que o uso de *A. brasilense* auxiliasse na manutenção dos teores de clorofila, visto que a inoculação com *A. brasilense* estimula a síntese de novas moléculas de clorofila, conforme demonstrado em trigo (Bashan et al., 2006). Em estudos com estresse vegetal, a imposição de déficit hídrico em *Urochloa ruziziensis*, associado à inoculação via pulverização foliar de *A. brasilense* evidenciou a ação destas bactérias promotoras de crescimento vegetal na manutenção dos teores de clorofila nas plantas estressadas (Bulegon et al., 2016). Os autores relacionaram este resultado aos maiores teores de carotenoides presentes nas folhas, que provavelmente protegeram as clorofilas da degradação (Abdelgawad et al., 2015).

Ao avaliar as trocas gasosas aos 7 DAA, constatou redução de 25,8% e 24,7% na taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> (*A*)

**Tabela 2.** Teores de pigmentos foliares em plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* e/ou adubada com nitrogênio aos sete dias após a aplicação do mesotriona.

Tratamentos	Clorofila <i>a+b</i> (µg g <sup>-1</sup> )		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
<i>A. brasilense</i>	39,105	39,526	39,315 a
Nitrogênio (N)	34,327	32,702	35,515 b
<i>A. brasilense</i> + N	37,966	39,256	38,539 a
Média	37,11 A	37,13 A	

Tratamento	Carotenoides totais (µg g <sup>-1</sup> )		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
<i>A. brasilense</i>	0,646	0,991	0,818
Nitrogênio (N)	0,439	0,879	0,659
<i>A. brasilense</i> + N	0,733	0,942	0,837
Média	0,606 B	0,937 A	

Valores de quadrado médios		
Fonte de variação	Clorofila <i>a+b</i>	Carotenoides
Bloco	22,10 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>
Adubação (A)	79,32 <sup>**</sup>	0,07 <sup>NS</sup>
Herbicida (H)	0,002 <sup>NS</sup>	0,65 <sup>**</sup>
AxH	4,13 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>
Resíduo	15,61	0,02
CV%	10,65	20,90

Letras semelhantes minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo Teste SNK a 5% de probabilidade. \*\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; <sup>NS</sup> não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

e taxa transpiratória (*E*), respectivamente, para as plantas com aplicação do mesotriona em relação às sem aplicação (Tabela 3). Aos 14 DAA, foi verificado que o herbicida continuou a interferir no sistema fisiológico vegetal, reduzindo em 6,7% a taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> e 29,5% a taxa transpiratória. Ao observar as plantas que receberam mesotriona, aquelas adubadas com N isolado demonstravam redução de 53,7% na transpiração em relação ao uso de *A. brasilense* + N. Assim, o efeito de fitotoxidez continuou a interferir na fisiologia e bioquímica do milho, comprovada pela menor taxa transpiratória, mesmo sem limitações hídricas no substrato, não permitindo a máxima expressão da fotossíntese para a cultura do milho.

A redução das trocas gasosas causada pela fitotoxidez pode ser associada ao aumento na síntese de etileno em plantas estressadas (Pires et al., 2015). Portanto, como em plantas inoculadas com *A. brasilense* ocorre redução da concentração de etileno pela competição da bactéria pela enzima precursora do etileno (Glick, 2014) consequentemente os efeitos da fitotoxidez foram reduzidos.

Os resultados encontrados no presente estudo são divergentes dos citados no híbrido Brskalb 330<sup>®</sup> conduzido em condição de campo, em que a fotossíntese das plantas tratadas ou não com mesotriona não apresentaram diferenças aos 7 DAA (Ogliari et al., 2014).

A aplicação do mesotriona reduziu o crescimento das plantas de milho avaliadas aos 28 DAA (49 DAS). A altura das plantas de milho com aplicação do mesotriona apresentou redução de 7,2% e 10,2% nos tratamentos com N em cobertura e *A. brasilense* + N, respectivamente, em relação aos respectivos tratamentos sem aplicação do herbicida. Para área foliar, observou-se redução de 8,5% nas plantas tratadas com mesotriona, enquanto aquelas que foram inoculadas de forma isolada com *A. brasilense* incrementaram a área foliar em 10,8% em relação ao uso de nitrogênio. Da mesma forma, a aplicação de mesotriona reduziu a massa seca de parte aérea (MSPA) do milho em 20,3% em relação ao milho sem aplicação deste herbicida (Tabela 4).

A menor massa seca de parte aérea nas plantas tratadas com mesotriona ocorreu devido ser uma resposta direta da redução da altura de planta e da área foliar promovida por esse tratamento. A maior área foliar pela inoculação das sementes

**Tabela 3.** Taxa assimilatória líquida de CO<sub>2</sub> (A) e Transpiração (E) em plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* e/ou adubada com nitrogênio aos 7 e 14 dias após a aplicação do mesotriona.

7 Dias após a aplicação				
Tratamento	A ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )		E ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Com mesotriona	Sem mesotriona
<i>A. brasilense</i>	18,66	25,57	3,75	5,40
Nitrogênio (N)	19,62	29,90	3,60	4,94
<i>A. brasilense</i> + N	25,35	30,34	4,77	5,77
Média	21,21 B	28,60 A	4,04 B	5,37 A
14 Dias após a aplicação				
Tratamento	A ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )		E ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Com mesotriona	Sem mesotriona
<i>A. brasilense</i>	33,59	42,09	4,49 aB	6,60 aA
Nitrogênio (N)	28,50	38,42	3,06 bB	6,08 aA
<i>A. brasilense</i> + N	34,59	33,83	4,99 aA	5,12 aA
Média	35,56 B	38,11 A	4,18 B	5,93 A
Valores de quadrado médios				
Fonte de variação	7 DAA		14 DAA	
	A	E	A	E
Bloco	94,53 <sup>NS</sup>	1,88 <sup>NS</sup>	124,81 <sup>**</sup>	2,94 <sup>**</sup>
Adubação (A)	1,98 <sup>NS</sup>	2,11 <sup>NS</sup>	41,24 <sup>NS</sup>	1,89 <sup>NS</sup>
Herbicida (H)	327,69 <sup>**</sup>	10,59 <sup>**</sup>	213,75 <sup>**</sup>	18,44 <sup>**</sup>
AxH	78,15 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	68,53 <sup>NS</sup>	4,38 <sup>**</sup>
Resíduo	65,63	1,17	28,26	0,71
CV%	32,52	23,01	15,13	16,67

Letras semelhantes minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo Teste SNK a 5% de probabilidade. \*\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; <sup>NS</sup> não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

**Tabela 4.** Características biométricas em plantas de milho inoculadas com *A. brasilense* e/ou adubada com nitrogênio aos 28 dias após a aplicação do mesotriona.

Tratamento	Altura de plantas (cm)		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
<i>A. brasilense</i>	85,50 aA	82,75 aA	84,12
Nitrogênio (N)	78,25 aB	84,35 aA	81,30
<i>A. brasilense</i> + N	78,87 aB	87,85 aA	83,36
Média	80,87 B	84,98A	
Tratamentos	Área foliar (cm <sup>2</sup> )		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
<i>A. brasilense</i>	609,08	656,30	632,69 a
Nitrogênio (N)	533,50	594,70	564,10 b
<i>A. brasilense</i> + N	542,97	578,89	560,93 b
Média	561,85 B	609,96 A	
Tratamento	Massa seca de parte aérea (g planta <sup>-1</sup> )		
	Com mesotriona	Sem mesotriona	Média
<i>A. brasilense</i>	6,05	6,11	6,08
Nitrogênio (N)	3,75	6,15	4,95
<i>A. brasilense</i> + N	4,87	6,17	5,52
Média	4,89 B	6,14 A	
Valores de quadrado médios			
Fonte de Variação	Altura de plantas	Área foliar	Massa seca de parte aérea
Bloco	46,52 <sup>NS</sup>	3796,78 <sup>NS</sup>	2,63 <sup>NS</sup>
Adubação (A)	3,53 <sup>NS</sup>	13152,18 <sup>**</sup>	2,54 <sup>NS</sup>
Herbicida (H)	156,57 <sup>**</sup>	13890,44 <sup>**</sup>	9,45 <sup>**</sup>
AxH	92,64 <sup>**</sup>	320,60 <sup>NS</sup>	2,75 <sup>NS</sup>
Resíduo	22,73	2269,27	1,51
CV%	5,71	8,13	22,27

Letras semelhantes minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não diferem entre si pelo Teste SNK a 5% de probabilidade. \*\* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F; <sup>NS</sup> não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

com *A. brasilense* está relacionado promoção de crescimento vegetal, estimulado pela síntese de fitohormônios que favorecem o desenvolvimento das plantas (Perrig et al., 2007).

Os resultados do presente estudo evidenciam que a inoculação com *A. brasilense* e a adubação com nitrogênio em cobertura não reduziram os sintomas visuais de fitotoxidez de mesotriona no milho. Contudo, o uso de *A. brasilense* via semente combinado com N em cobertura, reduz os danos

as trocas gasosas do milho e elevam a atividade da POD, podendo minimizar os efeitos da fitotoxidez do mesotriona no desenvolvimento inicial das plantas de milho.

## Conclusões

A aplicação de mesotriona causa efeitos fitotóxicos a cultura do milho reduzindo o teor de carotenoides, as trocas

gasosas e elevando a atividade da peroxidase, refletindo em menor desenvolvimento inicial das plantas de milho.

O uso de *A. brasilense* + nitrogênio mineral em cobertura não reduzem os sintomas visuais de fitointoxicação de mesotriona no milho. Contudo, elevam a atividade da POD e a taxa transpiratória do milho podendo minimizar os danos causados pelo mesotriona.

## Literatura Citada

- Abdelgawad, H.; Farfan-Vignolo, E. R.; Vos, D. de; Asard, H. Elevated CO<sub>2</sub> mitigates drought and temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes. *Plant Science*, v.231, p.1-10, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.11.001>.
- Agostinetto, D.; Perboni, L. T.; Langaro, A. C.; Gomes, J.; Fraga, D. S.; Franco, J. J. Changes in photosynthesis and oxidative stress in wheat plants submitted to herbicides application. *Planta Daninha*, v.34, n.1, p.1-9, 2016. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582016340100001>.
- Barbosa, M.R.; Silva, M. M. A.; Ulisses, L. W. C.; Camara, T. R. Geração e desintoxicação de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, v.44, n.3, p.453-460, 2014. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782014000300011>.
- Barchanska, H.; Babilas, B.; Gluzicka, K.; Zralek, D.; Baranowska, I. Rapid determination of mesotrione, atrazine and its main degradation products in selected plants by MSPD - HPLC and indirect estimation of herbicides phytotoxicity by chlorophyll quantification. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v.94, n.2, p.99-114, 2014. <https://doi.org/10.1080/03067319.2013.791977>.
- Bashan, Y.; Bustillos, J. J.; Leyva, L. A.; Hernandez, J. P.; Bacilio, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*, v.42, n.4, p.279-285, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00374-005-0025-x>.
- Bulegon, L. G.; Guimarães, V. F.; Laureth, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.46, n. 3, p.343-349, 2016. <http://doi.org/10.1590/1983-40632016v4641489>
- Dan, H. A.; Barroso, A. L. L.; Dan, L. G. M.; Procópio, S. O.; Oliveira, J.; Constantin, J.; Feldkircher, C. Supressão imposta pelo mesotrione a *Brachiaria brizantha* em sistema de integração lavoura-pecuária. *Plantas Daninhas*, v.29, n.4, p.861-867, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582011000400016>.
- Gantoli, G.; Ayala, V. R.; Gerhards, R. Determination of the critical period for weed control in corn. *Weed Technology*, v.27, n. 1, p.63-71, 2013. <https://doi.org/10.1614/WT-D-12-00059.1>.
- Gill, S. S.; Tuteja, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 48, n. 12, p.909-930, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
- Glick, B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, v.169, n. 1, p.30-39, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>.
- Godar, A. S.; Varanasi, V. K.; Nakka, S.; Prasad, P. V. V.; Thompson, C. R.; Mithila, J. Physiological and molecular mechanisms of differential sensitivity of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) to mesotrione at varying growth temperatures. *PLoS ONE*, v.10, n.5, p.1-17, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126731>.
- Hammerschmidt, R.; Nuckles, E. M.; Kuć, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, v.20, n.1, p.73-82, 1982. <https://doi.org/10.1016/0048-40598290025-X>.
- Havir, E. A.; McHale, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology*, v.84, n.2, p.450-455, 1987.
- Huseynova, I. M. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought. *Biochimica Et Biophysica Acta-Bioenergetics*, v.1817, n.8, p.1516-1523, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.02.037>.
- Jin, X.; Yang, G.; Tan, C.; Zhao, C. Effects of nitrogen stress on the photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll fluorescence, and sugar-nitrogen ratio in corn. *Scientific Reports*, v.5, article number 9311, 2015. <https://doi.org/10.1038/srep09311>.
- Kozłowski, L. A. Período crítico de interferência das plantas daninhas na cultura do milho baseado na fenologia da cultura. *Planta Daninha*, v.20, n.3, p.365-372, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582002000300006>.
- Langaro, A. C.; Agostinetto, D.; Ruchel, Q.; Garcia, J. R.; Perboni, L. T. Oxidative stress caused by the use of preemergent herbicides in rice crops. *Revista Ciência Agronômica*, v.48, n.22, p.358-364, 2017. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170041>.
- Lichtenthaler, H. K.; Buschmann, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In: Wrolstad, R.E.; Acree, T. E.; Decker, E.A.; Penner, M.H.; Reid, D.S.; Schwartz, S.J.; Shoemaker, C.F.; Smith, D.M.; Sporns, P. (Eds.). *Current protocols in food analytical chemistry*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2001. F:4:F4.3. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>.
- Mitchell, G.; Bartlett, D. W.; Fraser, T. E.; Hawkes, T. R.; Holt, D. C.; Townson, J. K.; Wichert, R. A. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Management Science*, v.57, n.2, p.120-128, 2001. <https://doi.org/10.1002/1526-499820010257:2<120::AID-PS254>3.0.CO;2-E>.
- Nia, S. H.; Zarea, M. J.; Rejali, F.; Varma, A. Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, v.11, n.2, p.113-121, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2012.02.001>.

- Nicolai, M.; Ovejero López, R. F.; Carvalho, S. J. P.; Moreira, M. S.; Chistoffoleti, P. J. Efeitos da adubação nitrogenada em cobertura sobre a seletividade de herbicidas à cultura do milho. *Planta Daninha*, v.24, n.2, p.279-286, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582006000200010>.
- Ogliari, J.; Freitas, S. P.; Evaristo, J. A. E.; Gomes, S. A.; Façanha, A. L. O.; Retamal, C. A.; Façanha, A. R. Análise do perfil eletroforético de proteínas citoplasmáticas para verificação do processo de desintoxicação do herbicida mesotrione em plantas de *Zea mays*. *Planta Daninha*, v.32, n.1, p.161-172, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582014000100018>.
- Ogliari, J.; Freitas, S. P.; Ramos, A. C.; Bressan Smith, R. E.; Façanha, A. R. Sistemas primários de transporte de prótons integram os mecanismos de desintoxicação do mesotrione em plantas de milho. *Planta Daninha*, v.27, n.4, p.799-807, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582009000400018>.
- Perrig, D.; Boiero, M. L.; Masciarelli, O. A.; Penna, C.; Ruiz, O. A.; Cassán, F. D.; Luna, M. V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.75, n.5, p.1143-1150, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0909-9>.
- Pires, M. F.; Castro, E. M. de; Magalhães, P. C.; Silva Neta, I. C.; Monteiro, A. G. D. P. 2015. Etileno e peróxido de hidrogênio na formação de aerênquima em milho tolerante a alagamento intermitente. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.50, n.9, p.779-787, 2015. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015000900006>.
- Santos, H. G.; Almeida, J. A.; Oliveira, J. B.; Lumbreras, J. F.; Anjos, L. H. C.; Coelho, M. R.; Jacomine, P.K.T.; Cunha, T.J.F. Oliveira, V. Á. de. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353p. SBCPD, 1995.
- Sociedade Brasileira de Plantas Daninhas - SBCPD. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina: Sociedade Brasileira de Plantas Daninhas, 1995. 42p.
- Sharma, P.; Jha, A. B.; Dubey, R. S.; Pessarakli, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, v.20, n.12, p.1-26, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>.
- Slama, I.; M'Rabet, R.; Ksouri, R.; Talbi, O.; Debez, A.; Abdelly, C. Water deficit stress applied only or combined with salinity affects physiological parameters and antioxidant capacity in *Sesuvium portulacastrum*. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, v.213, n.1, p.69-76, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2015.04.004>
- Uzilday, B.; Turkan, I.; Sekmen, A. H.; Ozgur, R.; Karakaya, H. C. Comparison of ROS formation and antioxidant enzymes in *Cleome gynandra* C4 and *Cleome spinosa* C3 under drought stress. *Plant Science*, v.182, p.59-70, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.03.015>.