



# FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola  
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

## Utilização de bioinoculantes para cultivo de milho (*Pennisetum glaucum*) com fontes naturais de fósforo

Christiane Abreu de Oliveira<sup>(1)</sup>; Eliane Aparecida Gomes<sup>(2)</sup>; Bianca Braz Mattos<sup>(3)</sup>; Jaqueline de Moura Araújo Teixeira<sup>(4)</sup>; Eveline Anielly Cristelli<sup>(5)</sup>; Fernanda Elisa Soares Dias<sup>(6)</sup>; Amanda de Oliveira Baracho<sup>(7)</sup>; Ivanildo Evódio Marriel<sup>(8)</sup>

<sup>(1,2,8)</sup> Pesquisador da EMBRAPA Milho e Sorgo; Rodovia MG 424 KM 45 – Sete Lagoas – MG. CEP. 35701-970; [christiane.paiva@cnpmc.embrapa.br](mailto:christiane.paiva@cnpmc.embrapa.br); [eliane@cnpmc.embrapa.br](mailto:eliane@cnpmc.embrapa.br); [imarriel@cnpmc.embrapa.br](mailto:imarriel@cnpmc.embrapa.br) <sup>(3)</sup> Analista da EMBRAPA Milho e Sorgo, [bianca@cnpmc.embrapa.br](mailto:bianca@cnpmc.embrapa.br) <sup>(4,5,6,7)</sup> Bolsista da EMBRAPA Milho e Sorgo; [jamoat2006@yahoo.com.br](mailto:jamoat2006@yahoo.com.br); [evcristelli@yahoo.com.br](mailto:evcristelli@yahoo.com.br); [fernandaesoaresdias@yahoo.com.br](mailto:fernandaesoaresdias@yahoo.com.br); [mandinhabaracho@hotmail.com](mailto:mandinhabaracho@hotmail.com).

**RESUMO** – O uso indiscriminado de fertilizantes químicos tem efeito direto sobre a sustentabilidade das culturas e segurança ambiental, por isso muitos estudos estão sendo desenvolvidos de forma a encontrar estratégias alternativas para a adubação fosfatada do solo. Dentre as alternativas, encontra-se o emprego de microrganismos capazes de liberar fósforo a partir de fontes insolúveis associados à adubação com rochas naturais. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de microrganismos solubilizadores de fósforo (MSP) sobre o crescimento de milho em solo adubado com fósforo natural, visando a seleção de bioinoculantes. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na EMBRAPA Milho e Sorgo. Foram testadas cinco estirpes de MSP, previamente caracterizadas como eficientes na solubilização de P, em associação com fosfatos naturais (fosfato de Araxá e fosfato de Itafós), em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Após 45 dias, avaliou-se massa seca e a contagem de MSP no solo. A aplicação do bioinoculante ocasionou acréscimos de até 8% na massa seca da parte aérea e 22% na raiz, em uso combinado com fosfato de Itafós. Com relação à contagem de MSP no solo, apesar de não haver diferença significativa, foi observada uma tendência de aumento dessa população também em uso combinado com fosfato de Itafós. Tendo isso, conclui-se que o crescimento do milho pode ser estimulado pela inoculação com MSP, principalmente contribuindo com o aumento do crescimento radicular, sendo os efeitos dependentes do inoculante e do tipo de rocha fosfática.

**Palavras-chave:** microrganismos, solubilização, fosfatos de rocha de Araxá e Itafós.

**INTRODUÇÃO** – Apesar de apresentar destaque na economia nacional, o agronegócio brasileiro ainda apresenta alta dependência do mercado externo para obter o suprimento dos fertilizantes. Atualmente, cerca de 50% dos fertilizantes fosfatados utilizados no Brasil são

importados, o que compromete a sustentabilidade da agricultura (MDIC, 2009).

Além do alto custo, o uso indiscriminado de fertilizantes fosfatados químicos podem ter efeitos negativos sobre a sustentabilidade da agricultura e o meio ambiente. Por isso, estão sendo estudadas uma série de estratégias alternativas para adubação fosfatada do solo (Khan et al., 2010). Uma das alternativas promissoras é a utilização de rochas naturais em associação com microrganismos do solo, denominados solubilizadores de fósforo (MSP). A liberação de fósforo solúvel a partir de rochas naturais por MSP, torna-o disponível para a nutrição da planta. Estudos recentes apontam que, em ensaios *in vitro*, os MSP proporcionam a liberação de até 211 mg de fósforo por litro, utilizando fosfato tricálcico como fonte de fósforo. Além disso, estudos em campo com arroz apontam que o uso de inoculantes poderia reduzir em até 50% o uso de adubos fosfatados (Rajapaksha et al., 2011; Hinsinger, 2001).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de MSP sobre o crescimento de milho em solo adubado com fosfato de rochas, visando a seleção de inoculantes para culturas de grãos.

**MATERIAL E MÉTODOS** - O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na EMBRAPA Milho e Sorgo. Foram testadas cinco estirpes de MSP, previamente isoladas e caracterizadas por Oliveira et al. (2009), em associação com fosfato de rochas naturais (fosfato de Araxá e fosfato de Itafós), em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Após 45 dias, avaliou-se massa seca e a contagem de MSP no solo.

### Produção dos bioinoculantes

Os microrganismos-teste, pertencentes à coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo previamente isolados por Oliveira et al. (2009), foram crescidos em caldo nutritivo. Após uma semana de crescimento, à 28°C, sob agitação, os inóculos foram centrifugados por 10 minutos, à 4450 RPM. As

suspensões bacterianas foram ajustadas à absorvância igual ou superior a 1, em comprimento de onda igual a 550nm. Posteriormente, as suspensões foram adicionadas ao veículo (carvão), na proporção de  $10^9$  células por grama de carvão, constituindo uma concentração final próxima a  $10^8$  células por grama de semente. O inoculante (bactéria + carvão) foi peletizado às sementes de milho com goma de fécula de mandioca.

#### **Plantio**

Para ensaio em casa de vegetação, foram utilizados vasos contendo 4 kg de um Latossolo Vermelho Distrófico, fase cerrado, com baixo teor de fósforo. Trinta dias antes do plantio, foi realizada adubação com solução nutritiva e calagem, com base na análise química do solo, com exceção do fósforo. Para a adubação fosfática, utilizaram-se 300 mg P .dm<sup>-3</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, utilizando-se como fontes as rochas Araxá e Itafós (5g/vaso). Após sete dias de incubação do solo com adubos e corretivos, foram semeadas 20 sementes de milho por vaso, deixando-se 10-12 plantas/vaso após o desbaste efetuado aso oito dias após a semeadura. Aos 20 dias após o plantio, os nutrientes foram reaplicados com solução nutritiva meia-força (Somasegaran & Hoben, 1985). Foram constituídos 12 tratamentos dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições.

#### **Coleta**

A coleta da parte aérea e raiz das plantas e do solo cultivado foi realizada 40 dias após a germinação (DAG) para análises químicas e microbiológicas.

#### **Determinação da massa seca**

Para determinação da massa seca dos tecidos vegetais, as amostras de tecido foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar, sob temperatura de 65 °C até atingir massa constante.

#### **Contagem de microrganismos**

Os microrganismos foram extraídos do solo com solução salina (NaCl a 0,85%) e plaqueados em meio Nautiyal sólido (Nautiyal, 1999). A contagem das colônias foi realizada após 15 dias de incubação em temperatura ambiente, sendo contado o total de colônias e o número de colônias formadoras de halo de solubilização de P em cada placa.

#### **Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) conforme o delineamento descrito no item material e métodos. As médias foram comparadas por meio do teste de “Bonferroni (P<0,05)”.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A aplicação do bioinoculante ocasionou acréscimos de até 8% na massa seca da parte aérea (Figura 1) com o inoculante B3 e 22% na raiz, com B4 em uso combinado com fosfato de Itafós (Figura 2). No caso do aumento da massa seca da raiz, pode ter ocorrido um efeito hormonal sobre o crescimento radicular do milho, sendo necessário estudos mais aprofundados com relação ao acúmulo de fósforo na raiz e parte aérea, como será feito em estudos posteriores. Entretanto, não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos inoculados e os sem inoculação, na promoção do crescimento das plantas de milho (Figura 3 e 4), raiz e parte aérea. Isso sugere que nem todas as estirpes eficientes na solubilização em condições de laboratório possuem efeitos positivos

significativos sobre o crescimento de plantas. No entanto, são necessários testes de campo para comprovação deste efeito, visto que o fósforo possui maior efeito sobre a produção e maturação de grãos (Parentoni et al., 2000), efeito este que só pode ser validado a campo.

Com relação à contagem de MSP no solo, em geral, o número de MSP nativos nos tratamentos que receberam a rocha Itafós, sem inoculação adicional, foi significativamente maior que os com Araxá. A fonte de fosfato também influenciou no número de MSP no solo. Apesar de não haver diferença significativa, foi observada uma tendência de aumento dessa população também em uso combinado com fosfato de Itafós.

A população nativa de microrganismos solubilizadores de P no tratamento sem inoculação, independente da rocha, foi igual á dos tratamentos que receberam inoculantes, indicando que esta população nativa pode ter influenciado no crescimento do milho na ausência de inoculação. Diferentemente de nossos resultados, Yu et al. (2011) encontraram um aumento na população de MSP nos tratamentos com inoculação de bactérias solubilizadoras de P em plântulas de noqueira. No nosso trabalho, pode ter ocorrido uma baixa inoculação dos microrganismos na semente, influenciando no crescimento da população no solo. No caso de microrganismos solubilizadores de fosfato, sugere-se recomendar uma inoculação acima de  $10^8$  células.grama de semente.

**CONCLUSÕES** - O crescimento do milho pode ser estimulado pela inoculação com MSP, sendo os efeitos dependentes do inoculante e do tipo de rocha fosfática. A população nativa de MSP pode ser influenciada pelo tipo de rocha fosfatada.

**AGRADECIMENTOS** – À FAPEMIG pelo apoio financeiro.

#### **REFERÊNCIAS**

- HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil*, The Hague, v. 237, p. 173-195, 2001.
- KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; AHMED, M.; OVES, M.; & WANI, P. A. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science*, V. 56, P. 1, 73 - 98, 2010.
- MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR. **Oficina sobre Fertilizantes no Brasil**, Contrato Ministério de Ciência e Tecnologia e Centro de Estudos Estratégicos MCT/FSAG-CGEE/Consultoria No 056/2009, 2009.
- NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, Amsterdam, v. 170, p. 265-270, 1999.
- OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; MUZZI, M. R. S., CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T., SCHAFFERT, R. E.; SÁ, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 41, p.1782–1787, 2009.

PARENTONI, S.N., VASCONCELLOS, C. A., ALVES, V.M.C., PACHECO, C.A.P., SANTOS, M.X., GAMA, E.E.G., MEIRELLES, W.F., CORREA, L.A., PITTA, G.V.E., BAHIA FILHO, A.F.C., 2000. Eficiência na utilização de fósforo em genótipos de milho. In: **Anais do Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, 23, Uberlândia, Brasil, p.92

RAJAPAKSHA, R. M. C. P.; HERATH, D.; SENANAYAKE, A. P.; SENEVIRATHNE, M. G. T. L. Mobilization of rock phosphate phosphorus through bacterial inoculants to enhance growth and yield of wetland rice. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 42, n. 3, p. 301-314, 2011.

SOMASEGARAN, P. & HOBEN, H. J. Methods in legume - Rhizobium technology. University of Hawaii Nifal. **Biological Nitrogen Fixation**, p. 54-63, 1985.

YU XUAN, LIU XU, ZHU TIAN HUI, LIU GUANG HAI, MAO CUI. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization. **Biology and Fertility of Soils**, v.47, n.4, p.437-446, 2011.

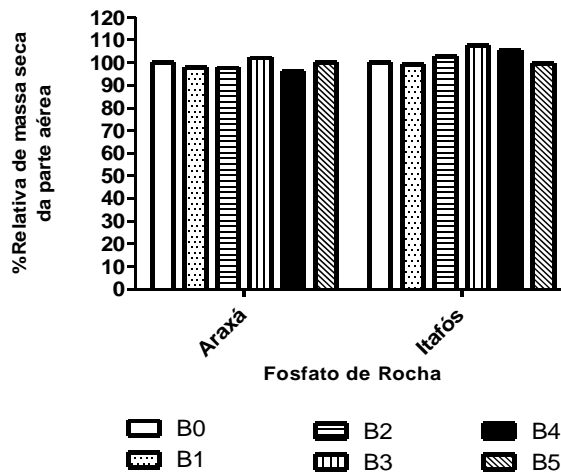


Figura 1: Análise da % relativa de massa seca da parte aérea do milho cultivado com bioinoculantes com adubação com diferentes fosfatos de rocha (Araxá e Itafós). B0 correspondente ao controle, sem inoculante; B1, B2, B3, B4 e B5 correspondem aos inoculantes formulados a partir de cinco diferentes estirpes bacterianas. Foram encontrados aumentos na massa seca nas plantas adubadas com B3 para fosfato de Araxá e Itafós, e com B2 e B4 para fosfato de Itafós, atingindo aumento de até 8% na massa seca.

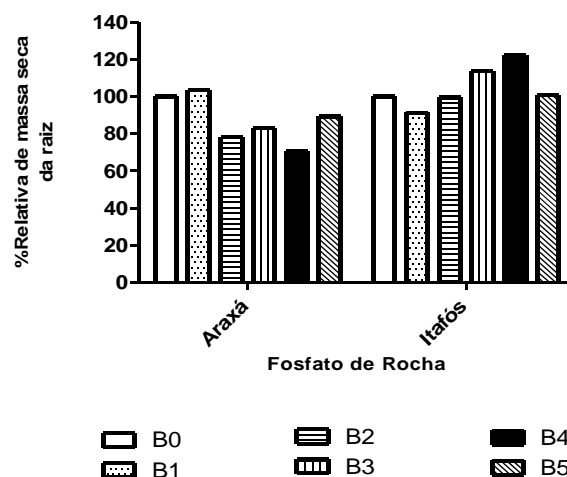


Figura 2: Análise da % relativa de massa seca da raiz do milho cultivado com bioinoculantes com adubação com diferentes fosfatos de rocha (Araxá e Itafós). B0 correspondente ao controle, sem inoculante; B1, B2, B3, B4 e B5 correspondem aos inoculantes formulados a partir de cinco diferentes estirpes bacterianas. Foram encontrados aumentos na massa seca nas plantas adubadas com B1 para fosfato de Araxá, e com B3 e B4 em uso combinado com fosfato de Itafós, atingindo aumento de até 22% na massa seca radicular.

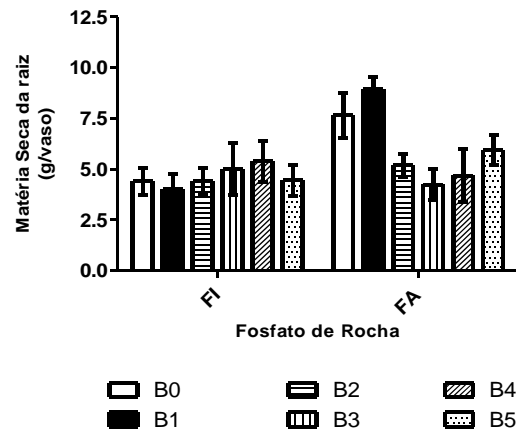


Figura 3: Análise da matéria seca da raiz do milho cultivado com bioinoculantes com adubação com diferentes fosfatos de rocha (Araxá e Itafós). B0 correspondente ao controle, sem inoculante; B1, B2, B3, B4 e B5 correspondem aos inoculantes formulados a partir de cinco diferentes estirpes bacterianas. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ( $P>0,05$ ).

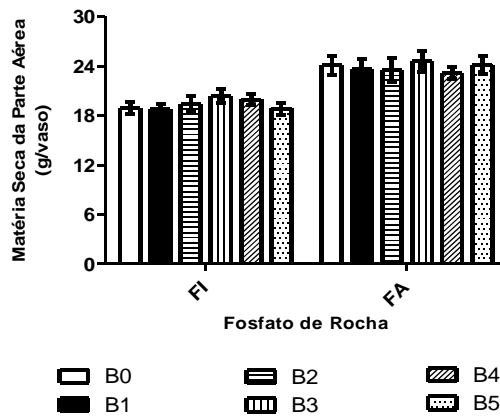


Figura 4: Análise da matéria seca da parte aérea do milho cultivado com bioinoculantes com adubação com diferentes fosfatos de rocha (Araxá e Itafós). B0 correspondente ao controle, sem inoculante; B1, B2, B3, B4 e B5 correspondem aos inoculantes formulados a partir de cinco diferentes estirpes bacterianas. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ( $P>0,05$ ).

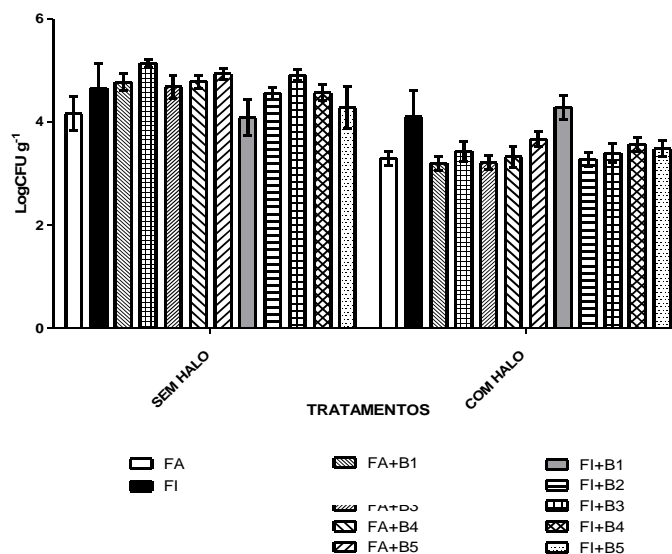


Figura 5: Contagem de microrganismos no solo cultivado com milho com adubação por bioinoculantes com diferentes fosfatos de rocha (Araxá e Itafós). B0 correspondente ao controle, sem inoculante; B1, B2, B3, B4 e B5 correspondem aos inoculantes formulados a partir de cinco diferentes estirpes bacterianas; FA e FI correspondem a Fosfato de Araxá e Itafós, respectivamente. “Sem Halo”, representam os microrganismos do solo incapazes de solubilizar P e “Com Halo” os MSP. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ( $P>0,05$ ).