

Produtividade do milho inoculado com bactérias endofíticas e rizobactérias solubilizadoras de fosfato na região Centro-Oeste brasileira

Christiane Abreu de Oliveira ⁽¹⁾; **Vitória Palhares Ribeiro** ⁽²⁾; **Eliane Aparecida Gomes** ⁽¹⁾; **Jean Marcel Rodrigues Pinho** ⁽³⁾; **Ubiraci Gomes de Paula Lana** ⁽³⁾; **Ivanildo Evódio Marriel** ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Pesquisador(a) Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 285, 35701-970, Sete Lagoas, MG; christiane.paiva@embrapa.br

⁽²⁾ Estudante; Universidade Federal de São João del-Rei; São João del-Rei, MG

⁽³⁾ Analista; Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 285, 35701-970, Sete Lagoas, MG

RESUMO: Com a finalidade de desenvolver uma tecnologia segura e de baixo custo que possa reduzir e/ou complementar a adubação fosfatada em áreas de plantio de milho, a utilização de microrganismos solubilizadores de fosfato (MSP) associados à adubação com fontes de fosfato de baixa solubilidade tem sido proposta. Com isso, o uso de bactérias endofíticas e rizobactérias como inoculantes na cultura do milho vem sendo avaliado visando à redução do uso de fertilizantes. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de MSP sobre a produtividade de milho na região Centro-Oeste, visando à validação de cepas para a recomendação de inoculantes em milho. O experimento foi conduzido na safra 14/15 e 15/16, no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, em Goiânia-GO, com adubação fosfatada a partir de fontes solúveis, superfosfato triplo e de baixa solubilidade, fosfato de rocha Araxá. Foram utilizadas nove estirpes bacterianas rizosféricas e endofíticas inoculadas na semente de milho. A produtividade de grãos foi estimada e os dados foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas por meio do teste de Scott-Knott a 5%. Houve diferença significativa na interação dos microrganismos com a fonte de P em ambas as safras. Ocorreu resposta significativa à inoculação com as estirpes E1, E3 e E9 na safra 14/15 e E1, E2, E4, E5, e E6 na safra 15/16 em relação às demais e ao controle não inoculado, independentemente da adubação. De maneira geral, tanto a inoculação com bactérias endofíticas quanto com rizobactérias fez com que a produtividade aumentasse em até 25% e o P nos grãos em até 23% a mais que a planta não inoculada, entretanto, este último aumento não foi significativo.

Termos de indexação: *Zea mays* L., bio-solubilização de fosfato, inoculantes.

INTRODUÇÃO

Apesar de ser destaque na economia nacional, o agronegócio brasileiro ainda apresenta alta dependência do mercado externo quanto ao suprimento dos fertilizantes. Atualmente, cerca de 50% dos fertilizantes fosfatados utilizados no Brasil são importados, o que compromete a sustentabilidade da agricultura e a competitividade do agronegócio brasileiro no mercado mundial (MDIC, 2009) de grãos.

Os fertilizantes fosfatados têm como fonte principal de P as rochas fosfáticas, que representam um recurso natural não renovável. Em alguns casos, a solução encontrada para manter uma boa produtividade tem sido a adição de fósforo (P) no solo na forma de fertilizante fosfatado solúvel, o que acarreta a formação de complexos insolúveis com os constituintes do solo, deixando apenas uma parte do nutriente disponível para o uso das plantas (Novais & Smyth, 1999). Com isso, há a necessidade de frequentes aplicações destes fertilizantes que apresentam custos elevados e podem causar danos ambientais (Richardson et al., 2001).

Por isso, tem-se buscado o desenvolvimento e o uso de tecnologias inovadoras ecoeficientes com base na inoculação de microrganismos com características que irão contribuir para incrementar a aquisição de nutrientes para as plantas. Uma delas é o uso de microrganismos solubilizadores de fosfato (MSP), que são capazes de solubilizar o P agregado aos fosfatos naturais dos fertilizantes o presente no solo. Essa liberação de fósforo por microrganismos se dá por meio da solubilização de fosfatos inorgânicos, associados aos íons Ca, Fe e Al a partir da liberação de ácidos orgânicos (Kpombekou & Tabatabai, 1994). Estes microrganismos podem também mineralizar fosfatos orgânicos presentes nos restos vegetais do solo e na matéria orgânica, produzindo enzimas fosfatases (Ghorbani-Nasrabadi et al., 2012).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de MSP sobre a produtividade de milho em solo adubado com fosfato de rocha e superfosfato triplo, visando recomendação de inoculantes para a cultura do milho.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas safras 2014/2015 e 2015/2016, em campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão em Goiânia-GO, região Centro-Oeste do Brasil. O experimento foi instalado em solo de fertilidade construída, classificado como Latossolo Vermelho Distroférico, pH H₂O = 6,0, Al = 0,01; Ca = 3,89; Mg = 1,67; T = 9,68 (cmolc dm⁻³); P = 15,9; K = 257,3 (mg dm⁻³); V = 64,3 %, MO = 3,42 (dag. kg⁻¹). As parcelas experimentais foram constituídas de quatro linhas de cinco metros, com espaçamento de 0,70 m entre linhas.

Tratamentos, plantio e amostragens

A cultura foi plantada em delineamento de parcelas subdivididas com três repetições, mantendo-se o mesmo sorteio de parcelas nas duas safras. Foram constituídos 50 tratamentos (10 tipos de inoculação e 5 tipos de adubação fosfatada, em quatro linhas de 5 metros e três repetições).

Foram utilizadas nove estirpes (E1 até E9) inoculadas na semente de milho (cultivar 30F35YH) em cada safra e o controle não inoculado (E0). A adubação de plantio foi realizada com aplicação de 300 kg.ha⁻¹ do formulado 20-00-20 (60 kg.ha⁻¹ de N e 60 kg.ha⁻¹ de K₂O). A fonte de fósforo foi aplicada de acordo com cada tratamento listado abaixo, na dose total de 100 kg P₂O₅/ha, exceto no controle sem adubação fosfatada (PO). Fontes de P: superfosfato Triplo (ST), fosfato de Araxá (FA), a mistura de metade da dose com ST e outra metade com FA (STFA) e metade da dose de ST (1/2 ST).

A adubação de cobertura foi dividida em duas aplicações de 150 kg.ha⁻¹ de ureia cada, aos 30 e 45 dias após o plantio. Os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com o recomendado para a cultura na região.

Produção dos inoculantes

As estirpes de bactérias utilizadas são pertencentes à Coleção de Microrganismos da Embrapa Milho e Sorgo e previamente testadas quanto à eficiência de solubilização de P por Oliveira et al. (2009). Os microrganismos foram crescidos em caldo nutritivo, por cinco dias, a 28 °C, sob agitação. Após o período de incubação, as culturas foram centrifugadas por 10 minutos, a 6.000 rpm.

As suspensões bacterianas foram ajustadas à absorbância igual ou superior a 1, em comprimento de onda de 550 nm, com a finalidade de obter-se aproximadamente 10⁹ células mL⁻¹.

Posteriormente, as suspensões foram adicionadas ao veículo (carvão + amido), constituindo uma concentração final próxima a 10⁸ células por grama de semente. Em seguida, o inoculante (bactéria + carvão) foi adicionado às sementes após o envolvimento destas com uma solução de goma de polvilho de mandioca a 5%.

Coleta e análise dos grãos

A coleta dos grãos de milho foi realizada manualmente com corte da espiga e debulha dos grãos. Ao final do ciclo, a planta foi colhida para avaliação das características agrônomicas: produtividade de grãos, corrigida a 13% de umidade para kg ha⁻¹ e teor de fósforo foliar e no grão.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas por meio do teste de Scott-Knott (p<0,05), utilizando o programa Sisvar, versão 5.3. Ferreira (2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de variância, observou-se diferença significativa para cada fonte de P e inoculantes em ambas as safras. Na safra 14/15, ocorreu resposta significativa à inoculação com as estirpes E1, E3 e E9 em relação às demais e ao controle não inoculado (E0) independentemente da adubação, (**Figura 1**).

Diferentemente da safra anterior, na safra seguinte (15/16) obtiveram-se resultados significativos quanto a resposta da produtividade de grãos, com a inoculação das estirpes E1, E2, E4, E5 e E6 (**Figura 1**), independentemente da adubação.

Outras pesquisas também têm relatados o efeito de MSP sobre a produtividade do milho. Em experimentos de campo com milho inoculado com *Penicillium oxalicum* e adubação com rochas, ocorreu aumento significativo do crescimento e produção em duas safras consecutivas em relação ao solo controle. O teor de P foi significativamente aumentado nas plantas de milho (Singh e Reddy, et al. 2011). Entretanto, as pesquisas publicadas, relatam apenas o efeito de microrganismos rizosféricos.

Neste trabalho, tanto a inoculação com bactérias endofíticas quanto com rizobactérias fez com que a produtividade aumentasse em até 25% na safra 14/15 e 13% na safra seguinte. Porém, houve maior número de produção de grãos na safra 15/16, o que pode ter sido causado pelo efeito residual da

adubação, especialmente nos tratamentos com o fosfato de rocha.

Por outro lado, observou-se que a estirpe E7, endofítica, quando inoculada em milho cultivado em condições de maior disponibilidade de P (ST, ST+FA), aumentou a produção de grãos (**Figura 2**), de maneira significativa com relação ao controle sem inoculação. Porém, este efeito não ocorreu em condições de menor disponibilidade de P para a planta (PO, 1/2ST). Isso pode ser explicado pelo baixo desenvolvimento das plantas nestas condições de estresse de P, o que pode ter afetado a simbiose interna com a bactéria endofítica. Os microrganismos endofíticos possuem maior interdependência com a planta (Hardoim et al., 2012) que os rizosféricos.

O P nos grãos, avaliado até o momento na safra 14/15, aumentou em até 23% a mais com relação ao controle sem inoculação, porém este aumento não foi significativo.

Embora o mecanismo exato pelo qual microrganismos solubilizadoras de P estimulam o crescimento e maior produtividade das plantas não seja claro, alguns microrganismos avaliados neste trabalho apresentam potencial para uso como biofertilizantes.

CONCLUSÕES

Ocorreu diferença significativa quanto a resposta do tipo de inoculante dos microrganismos endofíticos e rizobactérias independentemente da adubação fosfatada na produtividade de grãos. As estirpes de rizobactérias E1, E2, E3 e E4, mostraram maior estabilidade quanto ao efeito no aumento da produção de grãos de milho nas suas safras.

AGRADECIMENTOS

A Fapemig, CNPq, Embrapa Milho e Sorgo.

REFERÊNCIAS

BAGYARAJ DJ, SHARMA MP, MAITI D. Phosphorus nutrition of crops through arbuscular mycorrhizal fungi. *Curr Sci* 108:1288–1293. 2015.

DUARTE, J. O. INTRODUÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO MILHO. IN: CRUZ, J. C.; VERSIANI, R. P.; FERREIRA, M. T. R. (ED.). **CULTIVO DO MILHO**. SETE LAGOAS: EMBRAPA MILHO E SORGO, 2000.

FERREIRA, D.F. **Sisvar** versão 5.3. DEX/UFLA, 2010.

Ghorbani-Nasrabadi R, Greiner R, Alikhani HA, et al. Identification and determination of extracellular phytate-degrading activity in actinomycetes; *World J Microbiol Biotechnol* 2012 Jul; 28(7): 2601-8.

HARDOIM, P.R.; VAN OVERBEEK, L.S.; VAN ELSAS, J.D. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology* v.16, n. 10, p. 463-471, 2012.

KPOMBLEKOU, A.K., TABATABAI, M. A. Effect of organic acids on release of phosphorus from phosphate rocks. *Soil Science* 158, 442-453. 1994.

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.

NOVAIS, R.F; SMYTH, T.J. Fósforo em Solo e Planta em Condições Tropicais. **Viçosa: UFV**. 399 p, 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.

RICHARDSON, A. E.; HADOBAS, P. A.; HAYES, J. E.; O'HARA, C. P.; SIMPSON, R. J. Utilization of phosphorus and pasture plants supplied with myo-inositol hexaphosphate is enhanced by the presence of soil microorganisms. **Plant and Soil, The Hague**, v. 229, p. 47- 56, 2001.

SINGH, H.; REDDY, M. S. Effect of inoculation with phosphate solubi - lizing fungus on growth and nutrient uptake of wheat and maize plants fertilized with rock phosphate in alkaline soils. **European Journal of Soil Biology**, New Jersey, v. 47, p. 30-34, 2011.

STAMFORD N.P.; SANTOS C.E.R.S.; STAMFORD JÚNIOR, W.P.; DIAS, S.L. 2004. Biofertilizantes de rocha fosfatada com *Acidithiobacillus* como adubação alternativa de caupi em solo com baixo P disponível. **Analytica**, n.9, p.48-53, 2004.

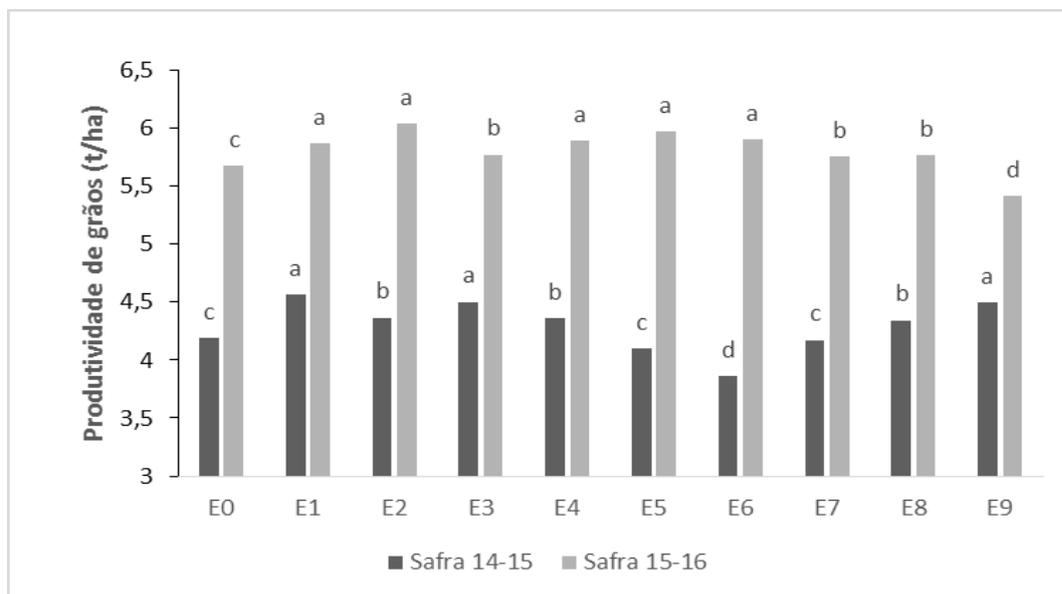


Figura 1. Média geral da produtividade de grãos (t/ha), safra 2014/2015 e 2015/2016, Goiânia-GO, independente da fonte de P, em milho inoculado com 9 bactérias solubilizadoras de fosfato (E1 a E9) em relação ao controle sem inoculação (E0). Médias de mesma letra não diferem entre si, dentro de cada safra, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

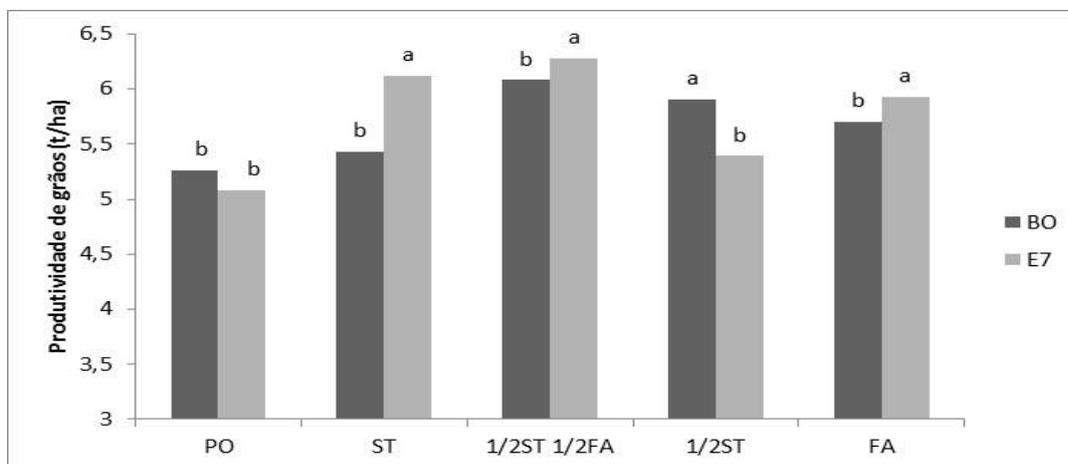


Figura 2. Produtividade de grãos (t/ha), safra de 2015/2016, Goiânia-GO, de acordo com a fonte de P (PO = sem fósforo, ST = superfosfato triplo, FA = fosfato de Araxá, 1/2ST1/2FA = metade da dose de cada fonte, 1/2ST = metade da dose de ST) em milho inoculado com a bactéria E7 (endofítica) em relação ao tratamento controle sem inoculação (E0). Médias de mesma letra, dentro de cada tratamento de adubação, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).