

Avaliação da qualidade do solo e do crescimento de milho co-inoculado com microrganismos solubilizadores de fósforo, fungos e *Azospirillum*¹

Fabício Nascimento Ferreira², Vitória Palhares Ribeiro³, Caroline dos Santos Martins Guieiro⁴, Eliane Aparecida Gomes⁵, Ivanildo Evódio Marriel⁵, Francisco Adriano de Souza⁵, Christiane Abreu Oliveira Paiva⁵

¹ Trabalho financiado pelo CNPq

² Graduando do Curso de Engenharia Ambiental – Centro Universitário de Sete Lagoas Convênio CNPq/Embrapa fabricionascimento92@hotmail.com

³ Mestranda em Bioengenharia de Sistemas Ecológicos- Universidade Federal de São João Del Rei-UFSJ/Embrapa vitypalhares18@hotmail.com

⁴ Engenheira Ambiental - Centro universitário de Sete Lagoas carolguieiro@hotmail.com

^{5,6,7} Pesquisador (a) Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 285, 35701-970, Sete Lagoas, MG

Introdução

Muitos microrganismos do solo têm sido usados como fertilizantes sobre plantas cultivadas (BAGYARAJ et al., 2015) em interação, como o uso conjunto de microrganismos solubilizadores de fósforo (MSP) e fungos micorrízicos (FMA), onde se obteve efeito sobre o crescimento das plantas de milho quando as bactérias fosfobactéria *Agrobacterium* sp. e *Pseudomonas* sp. Foram inoculadas nas sementes de com micorrizas. Esta co-inoculação resultou em aumento de matéria seca e absorção de fósforo. Vários outros trabalhos também relatam a interação entre inoculantes contendo MSP, fungos micorrízicos (WAHID et al., 2016) e outros contendo diazotróficos, por exercerem ações cooperativas (BAREA et al., 2005; BAGYARAJ et al., 2015). Outros relatam o efeito combinado de biofertilizantes contendo MSP, FMA e diazotróficos como *Azospirillum* em milho (WU et al., 2005; MOHAMED et al., 2014).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da co-inoculação de microrganismos solubilizadores de P (MSP), *Azospirillum* (AZO) e fungo micorrízico (FMA) no cultivo de milho adubado com fontes de P de diferentes solubilidades. Adicionalmente, avaliar a qualidade biológica do solo utilizando-se como indicador a atividade das enzimas arginase e urease.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas/MG (19 28'S e 44°15'W), com sementes de milho (*Pennisetum glaucum*),

variedade BRS 1501, em vasos de 5kg. Neste experimento foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 25 tratamentos combinados com 4 diferentes estirpes de bactérias e 3 tipos de adubação fosfatada (Tabela 1). Como inoculantes, foram utilizados dois microrganismos solubilizadores de fosfato (E1); duas cepas de *Azospirillum* E11; *Azospirillum* 2146 (E2) e uma cepa de fungo micorrízico arbuscular (E3). Estes microrganismos pertencem à coleção de microrganismos de Embrapa Milho e Sorgo. Os tipos de adubação fosfatada foram constituídos de fontes com diferentes graus de solubilidade de P: fosfato de rocha Araxá (FA); superfosfato triplo (ST) e da mistura das duas fontes (ST+FA). Foram adicionados 4 tratamentos como controle, onde não foi adicionado adubação fosfatada (PO) e nem inoculante (EO).

Para preparo do inoculante, os microrganismos foram reativados em placas de Petri contendo meio de cultura sólido. Posteriormente, cada estirpe foi transferida para cultivo em caldo de soja triplicaseína, durante 72 h, à temperatura de 29 °C, sob agitação de 350 rpm. Após 72h de crescimento, os inóculos foram centrifugados por 10 minutos, a 6000 rpm. As suspensões microbianas foram ressuspensas em solução salina [0,85% (m/v) NaCl] e ajustadas para a absorbância igual ou superior a 1, em comprimento de onda igual a 550 nm, correspondente a concentração de 10^9 células mL⁻¹. O inoculante com fungo micorrízico foi preparado com uma suspensão de esporos deste fungo imobilizado em casa de arroz.

Aos dez dias após a semeadura, efetuou-se o desbaste, deixando-se 8 -10 plantas vaso⁻¹. Na coleta, aos 40 dias após a germinação, na fase de pré-florescimento, cortou-se a parte aérea das plantas e coletou-se solo para análise química e teor de nutrientes na planta. Também foram coletadas amostras de solo rizosférico para a realização análises de enzimas arginase e urease. A atividade enzimática da urease foi realizada o método de reação colorimétrico prescrito por Kandeler e Gerber (1988). A atividade enzimática da arginase foi realizada o método de reação colorimétrico prescrito por Alef e Kleiner (1986). Os dados enzimáticos obtidos foram expressos em $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ substrato.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados por meio do teste se Scott- Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa de estatística SISVAR.

Resultado e Discussão

Ocorreu diferença significativa para os valores de atividade da arginase entre os tratamentos (Figura 1). Os valores variaram de 6,97 à 24,44 $\mu\text{g N-NH}^{4+} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$. A maior atividade ocorreu nos tratamentos sem fonte de P e sem inoculação. Isso indica que a adubação pode ter alterado a atividade dos microrganismos produtores de arginase envolvidos no ciclo de N.

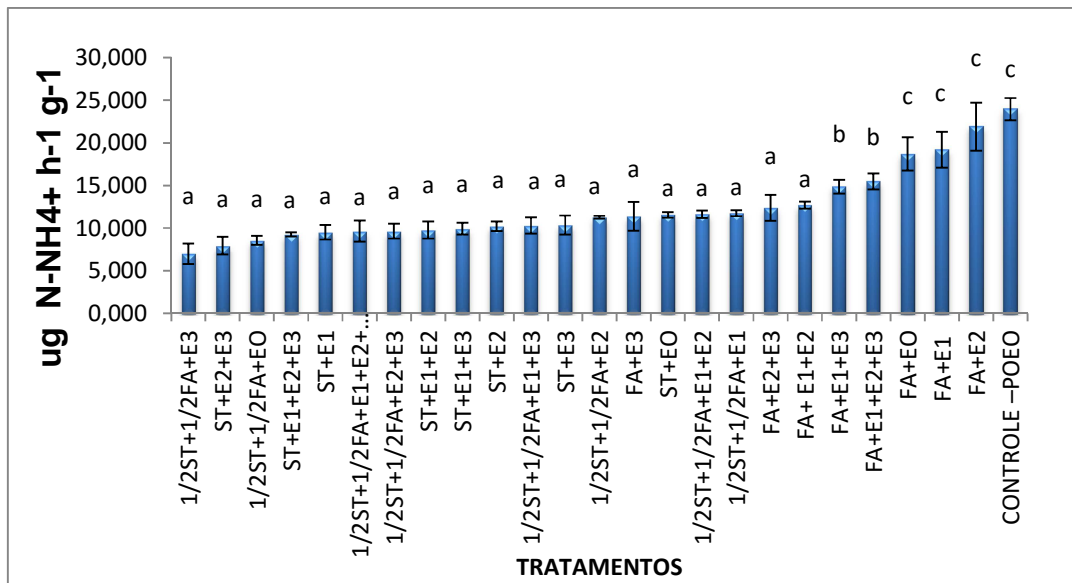


Figura 1: Atividade de arginase das amostras ($\mu\text{g N-NH}^{4+} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ substrato) nos tratamentos com diferentes estirpes e adubação com fontes diferentes fontes de P nas culturas de milho. Valores médios de 4 repetições. Sendo que a análise estatística é representada pelas letras em cima de cada tratamento no gráfico.

Ocorreu diferença significativa para os valores de atividade da urease entre os tratamentos (Figura 2). Os valores variaram de 121,8 à 179,05 $\mu\text{g N-NH}^{4+} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$. A maior atividade foi nos tratamentos com fonte de ST e com inoculação das diferentes estirpes que podem ter auxiliado na ciclagem de nitrogênio (N).

Não ocorreu diferença significativa no teste de média para os valores de atividade da massa seca (Figura 3) entre os tratamentos inoculados e não inoculados, somente entre as fontes de P, sendo o menor valor de peso seco (0,85g/vaso) no tratamento controle sem fósforo e o maior valor em milho adubado com ST (52,6g/vaso). Entretanto, em condições de adubação fosfatada de baixa solubilidade (FA), ocorreram ganhos de massa seca da parte aérea da planta de milho de até 70% a mais nos tratamentos com inoculação de FMA e

AZO e de 61,7% na co-inoculação com os 3 tipos de inoculantes (E1+E2+E3) e 59,6% com MSP +FMA.

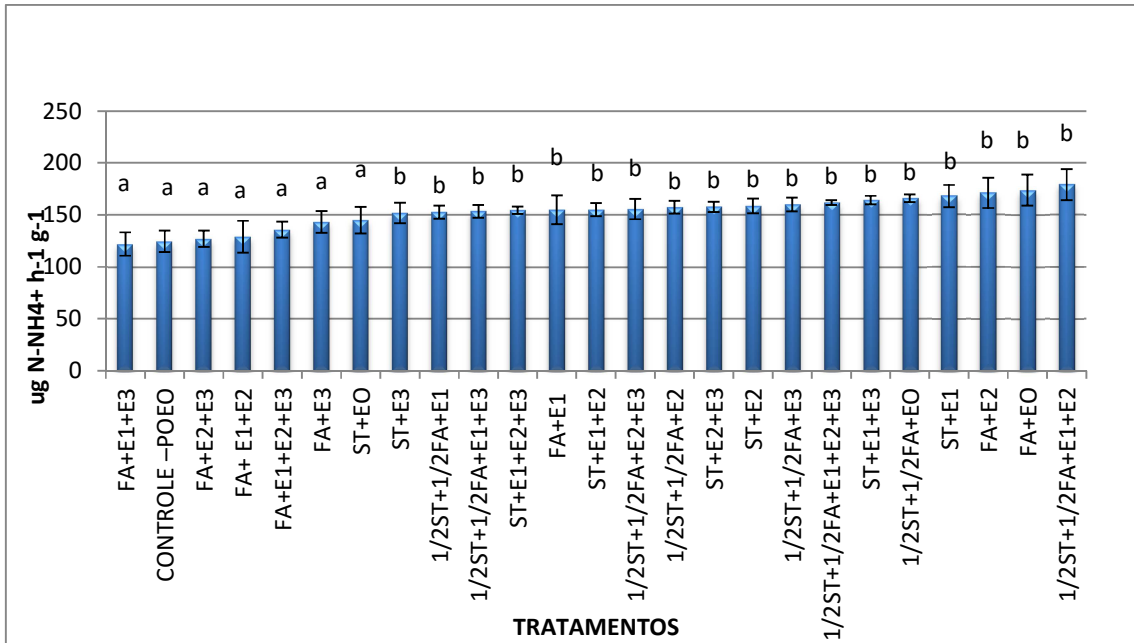


Figura 2: Atividade de urease das amostras ($\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ substrato) nos tratamentos com diferentes estirpes e adubação com fontes diferentes fontes de P nas culturas de milho. Valores médios de 4 repetições. Sendo que a análise estatística é representada pelas letras em cima de cada tratamento.

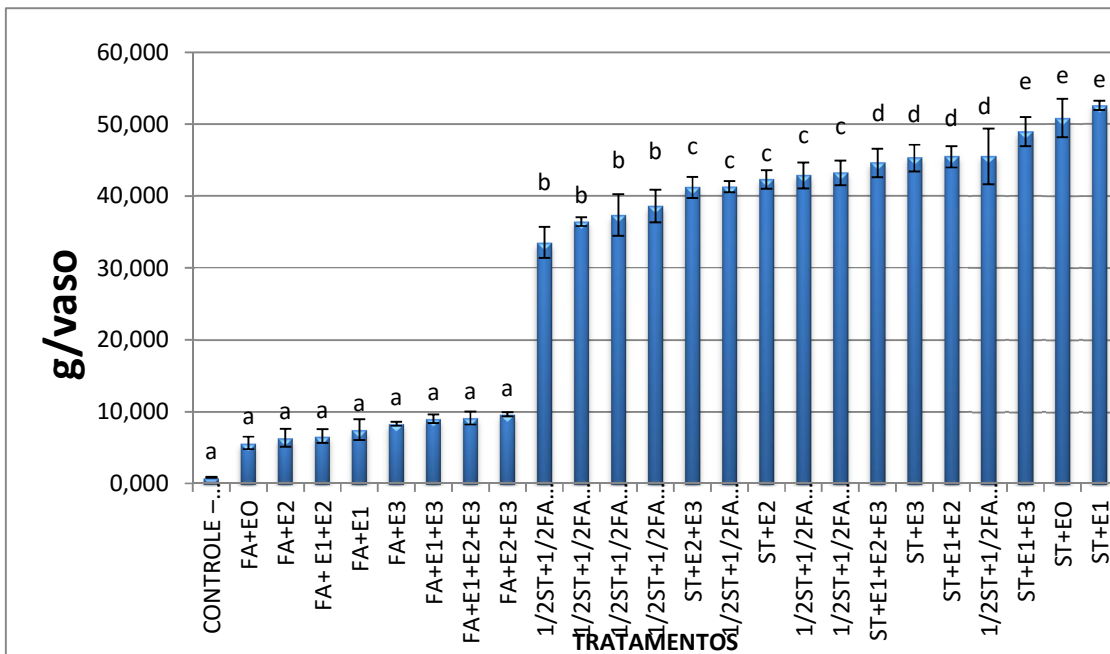


Figura 3: Resultados de peso seco da parte aérea de milho (g) nos tratamentos com diferentes estirpes e adubação com fontes diferentes fontes de P. Valores médios de 4 repetições. Sendo que a análise estatística é representada pelas letras em cima de cada tratamento no gráfico.

Conclusão

A co-inoculação com fungos micorrízicos, *Azospirillum* e microrganismos solubilizadores de fosfato proporcionou ganho de massa seca da parte aérea de milho quando adubado com fosfato de rocha.

Ocorreu variação da atividade das enzimas uréase e arginase em função do tipo de adubação fosfatada.

Referências

ALEF, K.; KLEINER, D. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potential in soils. **Soil Biology and Biochemistry**. Oxford, v.18, n. 2, p. 233-235, 1986.

BAGYARAJ, D. J.; SHARMA, M. P.; MAITI, D. Phosphorus nutrition of crops through arbuscular mycorrhizal fungi. **Current Science**, v. 108, p. 1288-1293, 2015.

KANDELER, E.; GERBER, H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 6, p. 68-72, 1988.

MOHAMED, A. A.; EWEDA, W. E. E.; HEGGO, A. M.; HASSAN, E. A. Effect of dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and sulphur-oxidising bacteria on onion (*Allium cepa* L.) and maize (*Zea mays* L.) grown in sandy soil under green house conditions. **Annals of Agricultural Sciences**, Cairo, v. 59, p. 109-118, 2014.

OGBO, F. C. Conversion of cassava wastes for biofertilizer production using phosphate solubilizing fungi. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 4120-4124, 2010.

SILVA, E.C. da; MURAOKA, T.; VILLANUEVA, F.C.A.; ESPINAL, F.S.C. Aproveitamento de nitrogênio pelo milho, em razão da adubação verde, nitrogenada e fosfatada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 2, p. 118-127, fev. 2009.

VASSILEV, S. V.; BAXTER, D.; ANDERSEN, L. K.; VASSILEVA, C. G. An overview of the chemical composition of biomass. **Fuel**, v. 89, p. 913-933, 2010.

WU, S. C.; CAO, Z. H.; LI, Z. G.; CHEUNG, K. C.; WONG, M. H. Effects of biofertilizer containing N-fixing, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. **Geoderma**, Amsterdam, v. 125, p. 155-166, 2005.