# BIOSSOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATOS NATURAIS E CRESCIMENTO DE MILHETO (PENNISETUM AMERICANUM)

<u>Fernanda Elisa Soares Dias</u> <sup>(1)</sup>; Eliane Aparecida Gomes <sup>(3)</sup>; Christiane Abreu Oliveira Paiva <sup>(3)</sup> Ubiana Cássia Silva <sup>(2)</sup>; Yasmin Souza Frade <sup>(1)</sup>; Ivanildo Evódio Marriel <sup>(3)</sup>

(1) Estudante, Centro Universitário de Sete Lagoas, Av. Marechal Castelo Branco 2765. E-mail: <a href="fernandaesoares@yahoo.com.br">fernandaesoares@yahoo.com.br</a>; (2) Estudante, Universidade Federal de São João Del Rei, Campus Sete Lagoas, MG; (3) Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 285, 35701-970, Sete Lagoas, MG

Resumo: O setor agrícola no país vem ganhando espaço devido sua contribuição ao desenvolvimento econômico nacional. Porém, grande parte dos solos brasileiros possui baixa disponibilidade de fósforo (P), acabando por limitar este crescimento e gerando uma dependência elevada de fertilizantes fosfatados, em sua maioria importados. Este fato justifica estudos para uso de fontes alternativas de fósforo, como os fosfatos naturais de rocha. Neste trabalho, buscou-se avaliar a liberação de P por microrganismos a partir de fosfatos de Araxá e de Itafós, em dois cultivos consecutivos de milheto em casa de vegetação. Foram conduzidos dois ensaios, utilizando-se duas bactérias previamente selecionadas como biossolubilizadoras de P in vitro (CMMSB70 e CMMSB30), sendo um com inoculante bioprocessado e outro com rochas não-bioprocessado, no total de 12 tratamentos cada, duas estirpes de bactérias combinadas com três fontes de P (duas rochas e supertriplo), além de tratamentos controle (fontes de P sem bactéria; sem rocha sem bactérias). Os foram dispostos em delineamento tratamentos inteiramente casualizado, com quatro repetições. Após a coleta em cada cultivo, avaliou-se a produção de massa seca da parte aérea na fase de pré-florescimento. No segundo cultivo, houve ganho de cerca de 20% de massa seca para o tratamento de Rocha Araxá e Itafós com inoculação de B32 e B70 respectivamente, com ao tratamento com a rocha, microrganismos. De acordo com os resultados obtidos, pode-se, de forma preliminar, inferir que a adição de microrganismos selecionados pode agregar valor aos fertilizantes fosfatos de rocha.

**Palavras-Chave**: microrganismos, solubilização, fosfatos de rocha.

### INTRODUÇÃO

As atividades agrícolas apresentam destaque na economia nacional devido aos ganhos de produtividade verificados neste setor. Contudo, o país depende do mercado externo para obter o suprimento dos fertilizantes utilizados na produção. Dentre os macronutrientes requeridos pelas culturas, o fósforo (P) é o que mais limita a produtividade agrícola nacional devido a sua baixa disponibilidade nos solos em

condições naturais (Souza et al., 2004, Novais et al., 2007).

Com isso, tem-se buscado a utilização de fontes alternativas, como os fosfatos naturais, que podem reduzir a dependência externa da agricultura em relação aos fertilizantes fosfatados. Neste contexto, tem sido avaliada a utilização de fosfatos de rocha regionais, como Abaeté, Araxá, Alvorada, Catalão, Patos e Tapira que demonstram, com relação aos solúveis em água, baixa eficiência inicial de liberação de P no solo (3 a 20%), melhorando um pouco após alguns anos (15 a 45%) (Lopes, 2004).

Microrganismos do solo aliados a rochas moídas são eficazes na solubilização de fósforo para as plantas. Vários estudos têm sido realizados para caracterização do potencial de solubilização dessas fontes de P (Mendes & Junior, 2003). Até o momento, os resultados apresentam-se satisfatórios como uma alternativa para melhorar a disponibilidade do fósforo e reduzir danos ao ambiente, em relação às fontes solúveis (Silva Filho et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de duas bactérias pré-selecionadas *in vitro* quanto à liberação de P, a partir dos fosfatos de Araxá e de Itafós, em dois cultivos consecutivos de milheto sob condições controladas na casa de vegetação usando o inoculante bioprocessado e rocha não bioprocressado.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois ensaios, em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, utilizando-se duas estirpes de bactérias (CMMSB32 e CMMSB70) pertencentes à coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Milho e Sorgo, previamente selecionadas *in vitro*, e uma cultivar de milheto (*Pennisetum americanum*) crescida em vasos de 5 kg de um LATOSSOLO VERMELHO Distrófico, fase cerrado, com baixo teor de P (Tabela 1).

**Tabela 1**. Análise química do solo utilizado para o experimento em vaso.

Mat. Orgânic a	pH <sub>H2O</sub>	P <sub>Mehlich-1</sub>	K	** SB	** V
Dag kg <sup>-1</sup>	-	mg d	m <sup>-3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	%
5,97	5,24	2,17	30,33	2,74	23,23

<sup>\*\*</sup> V: Saturação de base; SB: soma de bases. (Embrapa,1999)

Ensaio1 (rochas não bioprocessada): Neste ensaio foi avaliado o crescimento de plantas de milheto, em dois cultivos sucessivos, na presença dos seguintes tratamentos: duas bactérias isoladas, duas estirpes de bactérias combinadas com três fontes de P (duas rochas e supertriplo), além de tratamentos controle (fontes de P sem bactéria; sem rocha sem bactérias).

No ensaio 1, utilizou-se como inoculante uma cultura enriquecida durante três dias em meio BDA (Batata, Dextrose e Ágar).

Para obtenção dos inóculos, os isolados CMMSB32 e CMMSB70 foram colocados em meio de cultura líquido Tryptona de Soja, deixados crescer por 3 dias, a 28°C sob agitação. Em seguida, centrifugou-se a cultura saturada a 4.200 rpm por 10 minutos, descartou-se o sobrenadante e lavou-se o *pellet* com solução salina 0,85%, que foi ressuspendido em novamente em solução salina e ajustado para densidade ótica igual a 1, a 540 nm, correspondente a 10<sup>8</sup> células/mL de inóculo.

Ensaio 2 (rochas bioprocessada): Neste caso, o solo e os tratamentos testados foram similares aos do ensaio1, exceto que as rochas testadas como fonte de P foram preincubadas em 250 mL meio de cultura líquido Nibrip (2%, p/v), (Nautiyal, 1999), na presença dos microrganismos, durante o enriquecimento das culturas por 10 dias, à temperatura ambiente, sob agitação.

Antes do plantio, esta suspensão, contendo as rochas bioprocessadas, foi incorporada ao solo, de acordo com cada tratamento, para fornecerem quantidades equivalentes de P, ao do ensaio 1.

As datas de plantio, métodos e número de cultivos, colheita das plantas e análise dos dados foram similares ao do ensaio 1. Antes do plantio, foi realizada a calagem e adubação, com base na análise química do solo, com exceção do fósforo. Para a adubação fosfática utilizou-se as 5g das rochas Araxá e Itafós e 1,27g de superfosfato triplo distribuídos de acordo com cada tratamento.

Foram realizados dois cultivos consecutivos, sendo o segundo para avaliar o efeito residual dos tratamentos com fosfato de rocha. O primeiro plantio foi efetuado após sete dias de incubação do solo.

Para a inoculação, adicionaram-se 2 mL do inóculo de cada estirpe de bactéria por cova (duas sementes), no total de 20 mL /vaso. Após o desbaste, foram deixadas 10-12 plantas/vaso. Aos 20 dias após o plantio, os nutrientes foram reaplicados com solução nutritiva meia-força (Somasegaran & Hoben, 1985).

Aos 40 dias após a germinação, na fase de préflorescimento, efetuou-se a colheita das plantas.

No segundo cultivo, a colheita foi efetuada aos 43 dias após a germinação. Neste caso, os nutrientes foram reaplicados via solução nutritiva força-inteira (Somasegaran & Hoben, 1985).

Durante os dois cultivos, a umidade do solo foi mantida em torno de 70% da capacidade campo, com água destilada. Na colheita das plantas, nos dois casos, determinou-se a massa seca da parte aérea (MSPA) e de raízes, após a secagem em estufa com circulação forçada de ar, sob temperatura de 65°C até atingir massa constante.

Os dados foram submetidos a analise de variância, e as medias foram comparadas utilizando-se o teste Tukey a 5% de probabilidade, por meio do programa SISVAR (Ferreira, 2000).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando avaliar o potencial de duas bactérias préselecionadas quanto ao potencial de solubilização de P em fontes naturais de fosfato, foram usadas, B32 e B70 e duas rochas, de Araxá e de Itafós, em dois ensaios em casa de vegetação, sendo um com rochas bioprocessadas, ou seja, preincubação das rochas em meio de cultura na presença das bactérias e o outro com rochas não bioprocessada (inoculação das bactérias no momento do plantio). Para esta comparação, foi avaliada a massa seca das plantas de milheto nos dois cultivos de cada ensaio e a somatória desta massa (Tabela 2), buscando-se também obter informações sobre o efeito residual da rocha com o tempo.

No primeiro cultivo, não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos de rocha pura e os inoculados com microrganismos. Entretanto no tratamento que recebeu fontes solúveis de P, ocorreu produção de massa seca significativamente superior aos demais, para os dois tipos de inoculação (Tabela 2).

No segundo cultivo, observou-se que nos tratamentos que receberam a rocha, houve maior produção de massa seca que os tratamentos que receberam fontes solúveis de P, com diferença significativa para os dois ensaios. Isso indica que houve efeito residual das rochas no tempo com relação à fonte solúvel. Portanto, o resultado para o ST ficou abaixo do esperado, neste ensaio.

A eficiência da rocha e do microrganismo parece ter sido melhorada com o tempo, pois apesar de não ocorrer diferença significativa entre os tratamentos com rocha pura, nos tratamentos que receberam o inoculante do isolado CMMSB32 com a rocha fosfato de Araxá e o do CMMSB70 com rocha Itafós, ocorreram ganho em valores em torno de 20% de massa seca, no segundo cultivo.

Além da solubilização, muitos microorganismo solubilizadores de fósforo (MSF) produzem substâncias promotoras de crescimento de plantas que estimulam o maior crescimento das plantas que receberam inóculo (Narloch et al., 2002), sendo necessário avaliações do conteúdo de fósforo interno

na planta para certificação do efeito desta inoculação nas plantas e no ganho de massa seca. Estudos posteriores são necessários para comprovar o efeito solubilizador destes microrganismos no crescimento de plantas de milheto.

No segundo cultivo, houve diferença significativa entre as rochas, tendo o fosfato de Araxá proporcionado maior ganho de massa seca com relação ao Itafós no primeiro ensaio, sem incubação prévia da rocha com as bactérias. Com relação ao efeito da bactéria sobre a massa seca das plantas, nos dois cultivos, não se detectaram diferença significativa entre elas, independente das rochas avaliadas.

Os resultados observados sugerem que as rochas Itafós e Araxá podem ter sua eficiência melhorada pela inoculação com bactérias solubilizadoras de P. No entanto, estudos futuros serão necessários com estas bactérias na cultura do milheto para comprovar a economia do uso de inoculantes na redução do uso de fertilizantes solúveis e para testar o efeito residual a longo prazo dos fosfatos naturais em culturas consecutivas.

# **CONCLUSÕES**

- 1. O comportamento das estirpes em relação ao modo de inoculação, aplicadas no plantio ou préincubadas na rocha, diferiu quanto ao efeito no crescimento do milheto. Aplicação direta do inoculante no solo proporcionou o aumento da massa seca no milheto o que não ocorreu quando se aplicou a rocha pré-inoculada.
- 2. A utilização dos microrganismos resultou num ganho em torno de 20% no acúmulo de massa seca, no segundo cultivo, independente da rocha, embora essa diferença não tenha sido significativa.
- 3. O efeito do microrganismo e da rocha sobre o acúmulo de massa na cultura do milheto melhora com o tempo, em cultivos sucessivos.

# **AGRADECIMENTOS**

À Fapemig e Embrapa pelo apoio financeiro e ao CNPq pela concessão da bolsa PIBIC.

# REFERÊNCIAS

- EMBRAPA EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Manual de análise química de solo, plantas e fertilizantes. Embrapa Solos e Embrapa Informática Agropecuária, Brasília, 1999, 370 p.
- FERREIRA, D.F. Análise estatístcas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000. Programa e resumos. São Carlos, UFScar, 2000, p. 255-258
- LOPES, A.S.; SILVA, C. A. P.; BASTOS, A.R.R. Reservas de fosfatos e produção de fertilizantes fosfatados no Brasil e no mundo. . In: YAMADA, T. & BADALLA, S.R.S. (ed) *Fósforo na agricultura brasileira*. Piracicaba: Potatos, 2004.p.1-11.
- MENDES, Iêda de Carvalho & JNUIOR, Fábio Bueno dos Reis. Micorganismos e Disponibilidade de Fósforo (P) nos Solos uma Análise crítica. EMBRAPA, Planaltina, p. 9 26, 2003.

- NARLOCH, C. et al. Resposta da cultura do rabanete à inoculação de fungos solubilizadores de fosfatos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, n. 06, p. 841-845, 2002.
- NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microb. Letters.170: 265-270, 1999.
- NOVAIS. R.F.; SMYTH. T.J. NUNES, F.N. Fósforo. In: NOVAIS. R.F.; ALVAREZ, V.V.H.; BARROS, N.F.; FONTES, R.L.F.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L. (Ed) *Fertilidade do solo*. SBCS. Viçosa, 2007.1017p.
- SILVA FILHO, G.N.; NARLOCH, C.& SCHARF, R. Solubilização de fosfatos naturais por microrganismos isolados de cultivos de *Pinus* e *Eucalyptus* de Santa Catarina. *Pesquisa Agropecuária brasileira*. Brasília, v.37, n. 6, p. 847-854, 2002.
- SOMASEGARAN, P. & HOBEN, H. J. Methods in legume-Rhizobium technology. Hawaii: Niftal, 1985. P 54-63.
- SOUZA, D.M.G. de; LOBATO, E. & REIN, T.A. Adubação com fósforo. In: SOUZA, D.M.G. de & LOBATO, E. (Ed). Cerrado: Correção do solo e adubação. 2 ed. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2004.p.147-168.

**Tabela 2.** Resultados da análise da Matéria seca da parte aérea (MSPA) de milheto em dois cultivos consecutivos sob condições controladas, com adubação de rochas Araxá e ou Itafós e ou Super triplo e inoculação com duas estirpes de bactérias solubilizadoras de P (CMMS B70 e B32).

Tratamentos	MSPA 1*	MSPA 2**	SMPA***
ENSAIO 1.Inóculo direto no solo			
T1 - ( sem rocha + sem bactéria)	1,63 a	1,84 a	3,47 ab
T2. (sem rocha + B32)	1,68 a	1,63 a	3,32 ab
T3. (sem rocha + B70)	0,77 a	1,93 a	2,70 a
T4. (ST + sem bactéria)	40,91 c	1,80 a	42,71 e
T5. (ST + B32)	36,74 b	1,69 a	38,43 e
T6. (ST + B70)	37,50 bc	1,54 a	39,04 e
T7. (Araxá+ sem bactéria)	4,08 a	8,09 cd	12,18 cd
T8. ( Araxá+ B32)	4,03 a	10,08 d	14,12 d
T9. ( Araxá + B70)	3,64 a	7,99 cd	11,64 cd
T10. (Itafós + sem rocha)	3,07 a	4,97 b	8,04 bc
T11. (Itafós + B32)	3,29 a	6,55 bc	9,84 cd
T12. ( Itafós+ B70)	2,87 a	7,02 bc	9,90 cd
ENSAIO 2.Inóculo Bioprocessado			
T1 - sem rocha + sem bactéria	1,65 a	1,48 a	3,14 a
T2 - sem rocha + B32)	0,56 a	1,48 a	2,04 a
T3 - sem rocha + B70)	1,06 a	1,84 a	2,90 a
T4. (ST + sem bactéria)	33,5 b	15,87 c	49,45 b
T5. (ST + B32)	40,25 b	14,64 c	55,13 b
T6. (ST + B70)	37,00 b	16,78 c	54,01 b
T7. (Araxá+ sem bactéria)	2,25 a	5,42 ab	7,53 a
T8. ( Araxá+ B32)	1,75 a	6,00 ab	7,76 a
T9. ( Araxá + B70)	2,00 a	5,74ab	7,75 a
T10. (Itafós + sem rocha)	1,84 a	4,59ab	6,43 a
T11. ( Itafós + B32)	2,00 a	4,32 ab	6,32 a
T12. ( Itafós+ B70)	1,22 a	5,92 ab	7,14 a

<sup>\*</sup>Média da Massa Seca em gramas da 1ª coleta

<sup>\*\*</sup> Média Massa Seca em gramas da 2ª coleta

<sup>\*\*\*</sup> Média Soma da massa Seca em gramas das duas coletas