



XXXIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo

Solos nos biomas brasileiros: sustentabilidade e mudanças climáticas
31 de julho à 05 de agosto - Center Convention - Uberlândia/Minas Gerais

FONTES DE P ASSOCIADAS À INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS DO GÊNERO *Pseudomonas* NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO

Danilo Pinceli Chaves⁽¹⁾, Claudemir Zucareli⁽²⁾, Adilson de Oliveira Junior⁽³⁾, Lucas Costa Balan⁽⁴⁾, Lenon Augusto Prado⁽⁴⁾, Luiz Tadeu Jordão⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Engº agrônomo, Msc., Nidera Sementes, Supervisor Desenvolvimento Produtos, Lucas do Rio Verde-MT; ⁽²⁾ Prof. Dr. Adjunto do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445 Km 380, Caixa Postal: 6001 CEP: 86051-990, Londrina-PR. ⁽³⁾ Pesquisador Dr., Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, km 5, Caixa Postal: 231 CEP 86001-970, Londrina-PR.

⁽⁴⁾ Graduandos do curso de Agronomia pela Universidade Filadélfia, Londrina-PR; ⁽⁵⁾ Graduando do curso de Agronomia pela Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.

Resumo – O estudo teve como objetivo avaliar o efeito de fosfatos solúveis e naturais associados à inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* via sementes, no desenvolvimento de plantas de milho. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em esquema fatorial 6x3 em blocos casualizados, com quatro repetições. Foram aplicados 50 mg kg⁻¹ de P via solo por meio de cinco fontes: Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural Gafsa, Fosfato Natural Itafós, SFT+Gafsa e SFT+Itafós (ambas as misturas na proporção 1:1), além do controle (sem P), associadas a três níveis de inoculação: sem inoculação, estirpe A (*Burkholderia pickettii* GN 2214) e a estirpe B (*Pseudomonas* sp. do grupo Fluorescente P21). Por ocasião do florescimento masculino (60 DAE) foram analisadas as seguintes características: massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST) e a relação raiz/parte aérea (MSR/MSPA). As plantas obtiveram os maiores crescimentos e desenvolvimentos com a aplicação de SFT. A combinação de SFT+Gafsa e SFT+Itafós proporcionaram maior desenvolvimento para MSPA, MSR, e MST em relação aos fosfatos naturais aplicados isoladamente. O controle apresentou a maior relação MSR/MSPA. As estirpes P21 e GN 2214 promovem a biomassa das plantas de milho. As combinações de fosfatos solúveis com naturais constituem uma nova opção para a correção fosfatada para os sistemas de produção agrícolas.

Palavras-Chave: *Zea mays* L., fosfato, promoção de crescimento, massa seca de parte aérea.

INTRODUÇÃO

A deficiência de P prejudica a formação da biomassa vegetal (Mollier e Pellerin, 1999), limitando a absorção da radiação fotossintética pela planta (Colomb et al., 2000). O P no solo tem enorme relevância na formação de raízes e nas características fisiológicas das mesmas, sendo fundamental para que ocorra a absorção deste elemento pela planta (Hajabbasi e Schumacher, 1994).

Dentre as opções de fonte de P no mercado, os fertilizantes fosfatados totalmente acidulados (superfosfatos e amoniados) ocupam posição de

destaque (Prochnow et al., 2004). Os fosfatos solúveis têm sua eficiência diminuída ao longo do tempo devido ao processo de fixação de P. Já os fosfatos naturais, que são insolúveis em água, se dissolvem gradualmente na solução do solo e tendem a aumentar a disponibilidade do P para as plantas com o tempo (Korndörfer et al., 1999).

Os fosfatos naturais de origem sedimentar têm sido amplamente estudados nos últimos anos, em decorrência do aumento da oferta no mercado brasileiro (Horowitz e Meurer, 2004). Os fosfatos naturais podem ser reativos ou não, dependendo do grau de substituição isomórfica (Kliemann e Lima, 2001). O fosfato de Gafsa é um exemplo destas fontes de maior reatividade, a qual tem mostrado eficiência semelhante aos fosfatos solúveis ao fornecer P para plantas de ciclo curto (Horowitz e Meurer, 2004). O fosfato Itafós, uma nova fonte de P no mercado, é um fertilizante de origem sedimentar não reativo (Brasil, 2007). A reatividade de um fosfato natural é medida nos EUA pela solubilidade em citrato neutro de amônio, enquanto no Brasil é utilizada a solubilidade em ácido cítrico a 2%, e na Europa, o ácido fórmico a 2% (Chien e Hammond, 1978).

Também visando a maior eficiência dos fertilizantes fosfatados, a inoculação de Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs) é uma estratégia para a promoção de crescimento das plantas e solubilização de fosfatos inorgânicos do solo, mediante excreção de ácidos orgânicos e colonização rizosférica (Bolan et al., 1997). Estes microrganismos têm o potencial de disponibilizar o P inorgânico para as plantas (Richardson, 2001), solubilizando formas não-lábeis, e de promover aumentos fitométricos da raiz à parte aérea, favorecendo o crescimento e o desenvolvimento das culturas (Harthmann al., 2010). Estas promoções de crescimento são atribuídas à intensa produção de hormônios vegetais ou reguladores do crescimento vegetal pela população microbiana (Cattelan e Hartel, 2000), efeito no qual as *Pseudomonas fluorescens* são conhecidas como RPCPs altamente competitivas (Misko e Germida, 2002). Este alto potencial de colonizar raízes de milho suporta o relacionamento entre rizobactérias solubilizadoras de P, colonização radicular e promoção de crescimento (Chabot et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plantas de milho, em resposta à

aplicação de fontes de P solúveis e naturais associadas ou não à inoculação com rizobactérias do gênero *Pseudomonas*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido sob condições controladas de casa de vegetação, na Embrapa Soja, 630 m de altitude, Londrina-PR. O experimento seguiu o delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 6x3 (seis fontes e três níveis de inoculação), com 18 tratamentos e quatro repetições. Foram avaliadas seis fontes de P: controle (sem P), Superfosfato Triplo – SFT (solúvel), fosfato de Gafsa (natural reativo de origem sedimentar), fosfato Itafós (natural não reativo de origem sedimentar), SFT+Gafsa e SFT+Itafós. O P foi aplicado na dose de 50 mg kg⁻¹ de P via solo, sendo que nas misturas (SFT+Gafsa e SFT+Itafós), utilizou-se 25 mg kg⁻¹ de P para cada fonte do nutriente.

As fontes fosfatadas foram associadas com três níveis de inoculação via sementes de bactérias do gênero *Pseudomonas*: (sem inoculação, estirpe A (*Burkholderia pickettii* GN 2214) e estirpe B (*Pseudomonas* sp. do grupo Fluorescente P21).

Os vasos corresponderam a tubos de cloreto de polivinila (PVC) com dimensões de 14,3 cm de diâmetro e 50 cm de altura. Antes da implantação dos tratamentos, realizou-se um corte transversal nos tubos de PVC, utilizando-se serra circular. Como sustentação, utilizou-se as tampas dos tubos de PVC, encaixados na base de cada tubo. Com o auxílio de furadeira, perfurou-se cada tampa, formando seis orifícios homogêneos. Para a proteção dos orifícios e melhor vedação da tampa ao tubo de PVC, utilizou-se telas de sombrite. Antes do preenchimento dos vasos, realizou-se também uma higienização (idêntica à realizada na estufa), mantendo o fundamento de um meio inicial com a máxima eliminação de esporos possível.

Completadas estas etapas, os tubos foram preenchidos com o solo, e os tratamentos aplicados. Aplicou-se para a correção dos macronutrientes 100 mg kg⁻¹ de N na forma de (NH₄)₂SO₄ e 100 mg kg⁻¹ de K na forma de KCl. Cada tubo, composto por 50 cm de altura, foi preenchido até 20 cm com solo sem adubação (camada 20-40 cm). O restante, simulando a camada de 0-20 cm (4 dm³ de solo), foi misturado com cada fonte de fosfato e demais macronutrientes.

A dose dos inoculantes (turfosos) foi de 500 gramas por 50 mil sementes de milho. Para melhor aderência do inoculante, utilizou-se solução açucarada a 10% autoclavada, 5 mL kg⁻¹ de semente. O híbrido utilizado foi o Balu 761.

Por ocasião do florescimento masculino (50%) aos 60 dias após emergência (DAE), realizou-se a avaliação das seguintes variáveis: Massa seca de parte aérea (MSPA): as plantas foram coletadas, sendo submetidas à secagem em estufa de circulação forçada à 65°C, até atingirem massa constante. Ao separar a parte aérea da radicular, o solo foi retirado dos tubos com cautela e dispostos em bandejas metálicas. Assim,

foi destinado para secar em estufa com circulação forçada de ar a 50°C, por 24 h, visando maior praticidade para a separação do solo das raízes. A separação das raízes ocorreu após a secagem, sendo que todas as raízes presentes foram retiradas com o auxílio de pinça e peneiras. Após a separação, as raízes foram levadas à estufa e condicionadas à 65°C até atingir massa constante. Massa seca de raízes (MSR): as raízes foram pesadas em balança analítica, com os resultados expressos em g vaso⁻¹. A partir das variáveis MSR e MSPA, obteve-se por soma a massa seca total das plantas (MST), e ainda, a relação raiz:parte aérea (MSR/MSPA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O controle apresentou o maior valor de MSR/MSPA em relação às demais fontes, que por sua vez, foram estatisticamente semelhantes, havendo uma variação de 0,20 a 0,43 nesta relação. A relação MSR/MSPA deve ser interpretada conforme o status de P em que as plantas se encontram (Mollier e Pellerin, 1999). A deficiência fosfatada favorece o crescimento de raiz em relação à parte aérea, resultando em maior relação MSR/MSPA (Liu et al., 2004). Isto ocorre devido ao estímulo de crescimento radicular em busca de nutrientes, em relação aos decréscimos da parte aérea (Mollier e Pellerin, 1999).

Tabela 1. Dados médios da relação MSR/MSPA em plantas de milho em função de diferentes fontes de P e níveis de inoculação com bactérias do gênero *Pseudomonas*.

CAUSA DE VARIAÇÃO	MSR/MSPA
FONTES DE P	g g ⁻¹
CONTROLE (sem P)	1,34 A
SFT	0,36 B
GAFSA	0,20 B
ITAFOS	0,43 B
SFT+GAFSA	0,35 B
SFT+ITAFÓS	0,32 B
NÍVEIS DE INOCULAÇÃO	
Sem inoculante	0,54
GN 2214	0,52
P21	0,44
CV(%)	82,56

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a p<0,05.

* e ^{ms}: significativo a 5% e não significativo.

Houve diferença significativa entre fontes para a produção de MSPA com maiores valores para SFT isolado ou associado aos fosfatos naturais em relação às demais fontes (Tabela 2). Além disso, a produção de MSPA do fosfato de Gafsa e do Itafós quando combinadas com SFT foram em média 140 e 3608%, respectivamente, maiores em relação à verificada quando estas fontes foram aplicadas isoladamente. Estes resultados evidenciam a existência de compatibilidade entre as fontes, ou seja, a fração solúvel leva ao maior aproveitamento da fração insolúvel de P (priming effect) (Chien et al., 1987).

A inoculação de P21 aumentou 28,2% a MSPA de plantas de milho em relação ao SFT não inoculado (Tabela 2). O isolado GN 2214 não foi diferente da não inoculação de SFT, mostrando menor potencial para promover aumento da MSPA de plantas de milho. Chabot et al. (1998) também relataram aumentos na MSPA de plantas de milho com a inoculação de *Rhizobium* num solo com alta disponibilidade em P. Biari et al. (2008), observaram aumentos de 63 a 115% em relação ao controle, utilizando RPCPs.

Tanto na MSR, como no MST, as fontes SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós foram superiores às demais fontes (Tabela 2). Entretanto, o SFT aplicado individualmente foi superior à mistura SFT+Itafós. Alguns autores relataram aumentos na MSR aplicando fosfato solúvel (Ernani e Barber, 1991; Klepker, 1996) e fosfato natural (Alloush e Clark, 2001), em relação ao controle. Liu et al. (2004), relataram aumentos na MSR em plantas de milho sob condição de adequado suprimento de P, em relação à uma condição deficiente deste elemento. Mollier e Pellerin (1999) observaram diminuições tanto para MSPA como para MSR com a deficiência de P, cuja redução foi mais pronunciada para a MSPA. A aplicação isolada de fosfato de Gafsa resultou em maior desenvolvimento radicular que o fosfato Itafós isolado, o qual foi semelhante ao controle. Quando associados ao SFT, a MSR obtida com as fontes SFT+Gafsa e SFT+Itafós foram em média 257 e 2995% maiores do que às verificadas para os fosfatos naturais isolados (Tabela 2).

Para MSR, GN 2214 apresentou potencial de promoção do sistema radicular, sendo superior 38,9% não inoculado quando usado o SFT. Para essa fonte a estirpe P21 foi igual à não inoculação. Portanto, a GN 2214 apresentou melhor potencial para promoção de sistema radicular, ao passo que, a P21 possui maior potencial para promoção de MSPA, para SFT.

Por ser calculada a partir da soma da MSPA e MSR, a MST é coerente aos resultados obtidos para as partes em função das fontes fosfatadas, sendo que a aplicação da fonte solúvel foi superior em todas as variáveis. Em relação ao SFT isolado, a fonte SFT+Gafsa foi estatisticamente igual. A aplicação de SFT+Itafós apresentou valor inferior ao SFT, embora superior ao controle, Gafsa e Itafós.

Considerando que existe uma relação positiva entre produção de biomassa com a produtividade de grãos (Klepker, 1996), a inoculação de P21 proporcionou consideráveis incrementos de MSPA e MST, podendo ser uma nova ferramenta para o manejo da cultura associado à diminuição dos custos com aumentos de produção. A estirpe GN 2214 também mostrou-se eficaz, embora somente para MSR, que por sua vez, foi superior ao controle.

Desta forma, pode-se afirmar que o P solúvel é determinante para o desenvolvimento das plantas de milho nestas condições limitantes de P. Comparando as fontes entre si, são evidentes, a variação da liberação de P e a capacidade que cada fonte possui em disponibilizar este elemento à planta.

As rizobactérias apresentaram resultados relevantes, exigindo maiores estudos em diferentes condições. Quando associadas com a fonte solúvel, o efeito benéfico produzido pode estar mais associado à promoção de crescimento que à solubilização de P. Salienta-se novos estudos com as rizobactérias em diferentes condições, como a realização de inoculações duplas, buscando interações também entre as rizobactérias. O uso de inoculantes já está bastante difundido no Brasil e possui todas as ferramentas para que esta prática prospere, e torne-se uma tecnologia adicional e viável para os sistemas de produção agrícolas.

CONCLUSÕES

1. O fosfato solúvel, isolado ou em mistura com os naturais, favoreceu o desenvolvimento das plantas de milho.
2. Os fosfatos Gafsa e Itafós associados com o SFT incrementaram o crescimento e desenvolvimento do milho em relação às aplicações isoladas destes fosfatos naturais.
3. As estirpes P21 e GN 2214 possuem a capacidade em promover a biomassa de plantas de milho.
4. A maior relação MSR/MSPA está relacionada com a deficiência de P no meio.

REFERÊNCIAS

- ALLOUSH, G. A.; CLARK, R. B. Maize response to phosphate rock and arbuscular mycorrhizal fungi in acidic soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, New York, v.32, p.231-254, 2001.
- BIARI, A.; GHOLAMI, A.; RAHMANI, H. A. Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promotion rhizobacteria in arid region of Iran. *Journal of Biological Sciences*, v.8, n.6, p.1015-1020, 2008.
- BOLAN, N. S. et al. Enhanced dissolution of phosphate rocks in the rhizosphere. *Biology and Fertility of Soils*, New York, v.24, p.169-174, 1997.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Definições e normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes minerais, destinados à agricultura. Instrução Normativa nº 5, Brasília, 2007.
- CATTELAN, A. J. HARTEL, P. G. Traits associated with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). In: *Tópicos em ciência do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.1, (2000) – Viçosa : Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000.
- CHABOT, R. et al. Effect of phosphorus on root colonization and growth promotion of maize by bioluminescent mutants of phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.30, n.12, p.1615-1618, 1998.
- CHIEN, S. H. et al. Greenhouse evaluation of phosphorus availability from compacted phosphate rocks with urea or with urea and triple superphosphate. *Nutrient Cycling in Agroecosystems (Antiga Fertilizer Research)*, Dordrecht, v.14, p.245-256, 1987.
- CHIEN, S. H.; HAMMOND, L. L. A comparison of various laboratory methods for predicting the agronomic potential of phosphate rocks for direct application. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, v.42, p.935-939, 1978.

- COLOMB, B.; KINIRY, J. R.; DEBAEKE, P. Effect of soil phosphorus on leaf development and senescence dynamics of field-grown maize. *Agronomy Journal*, Madison, v.92, n.3, p.428-435, 2000.
- ERNANI, P. R.; BARBER, S. A. Corn growth and changes of soil and root parameters as affected by phosphate fertilizers and liming. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.26, n.9, p.1309-1314, 1991.
- HAJABBASI, M. A.; SCHUMACHER, T. E. Phosphorus effects on root growth and development in two maize genotypes. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.158, n.1, p.39-46, 1994.
- HARTHMAN, O. E. L. et al. Rizobactérias no crescimento e na produtividade da cebola. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.2, p.462-465, 2010.
- HOROWITZ, N. M.; MEURER, E. J. Eficiência agrônômica de fosfatos naturais. In: SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA. Piracicaba, 2004. Anais. Piracicaba, Potafos/Anda, 2004. 665-688p.
- KLEPKER, D. Distribuição de fósforo e de raízes no solo e sua relação com o estresse hídrico e o crescimento do milho. 1996. 178f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.
- KLIEMANN, H. J.; LIMA, D. V. Eficiência agrônômica de fosfatos naturais e sua influência no P disponível em dois solos de cerrado. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v.31, p.111-119, 2001.
- KORNDÖRFER, G. H.; LARA-CABEZAS, W. A.; HOROWITZ, N. Eficiência agrônômica de fosfatos naturais reativos na cultura do milho. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v.56, n.2, 1999.
- LIU, Y. Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. *Plant Science*, Clare, v.167, n.2, p.217-223, 2004.
- MISKO, A. L.; GERMIDA, J. J. Taxonomic and functional diversity of *Pseudomonads* isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiology Ecology*, v.42, p.399-407, 2002.
- MOLLIER, A.; PELLERIN, S. Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.50, n.333, p.487-497, 1999.
- PROCHNOW, L. I.; ALCARDE, J. C.; CHIEN, S. H. Eficiência agrônômica dos fosfatos totalmente acidulados. In: SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA. Piracicaba, 2004. Anais. Piracicaba, Potafos/Anda, 2004. 605-664p.
- RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, Collingwood, v.28, p.897-906, 2001.

Tabela 2. Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação via sementes de *P. fluorescens* em plantas de milho para massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST).

CAUSA DE VARIACÃO	CONTROLE	SFT	GAFSA	ITAFÓS	SFT+GAFSA	SFT+ITAFÓS
MSPA						
SEM	0,5cA	57,1aB	24,2bA	1,1cA	65,3aA	49,8aA
P21	0,7cA	62,4aAB	26,9bA	1,7cA	53,4aA	56,3aA
GN 2214	0,5cA	73,2aA	24,1bA	1,9cA	61,3aA	60,9aA
MSR						
SEM	0,7bA	19,0aB	5,5bA	0,6bA	18,1aA	18,3aA
P21	0,5cA	26,4aA	7,2cA	0,6cA	23,1abA	16,3bA
GN 2214	0,6bA	24,1aAB	4,1bA	0,5bA	18,2aA	18,3aA
MST						
SEM	1,2cA	76,1aB	29,6bA	1,7cA	83,4aA	68,1aA
P21	1,2cA	88,8aAB	34,1bA	2,2cA	76,5aA	72,6aA
GN 2214	1,1cA	97,2aA	28,2bA	2,4cA	79,5aA	79,2aA

Média seguidas de mesma letra, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.