



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

DANILO PINCELI CHAVES

**FONTES DE FÓSFORO ASSOCIADAS À RIZOBACTÉRIAS
DO GÊNERO *Pseudomonas* NA CULTURA DO MILHO**

Londrina
2011

DANILO PINCELI CHAVES

**FONTES DE FÓSFORO ASSOCIADAS À RIZOBACTÉRIAS
DO GÊNERO *Pseudomonas* NA CULTURA DO MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Claudemir Zucareli
Co-orientador: Dr. Adilson de Oliveira Junior

Londrina
2011

Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C512f Chaves, Danilo Pinceli.
Fontes de fósforo associadas à rizobactérias do gênero *Pseudomonas* na cultura do milho/ Danilo Pinceli Chaves. – Londrina, 2011.
154f. : il.

Orientador: Claudemir Zucareli.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2011.
Inclui bibliografia.

1. *Zea Mays* L. – Teses. 2. Disponibilidade de P – Teses. 3. Promoção de crescimento – Teses. 4. Fosfato natural – Rizosfera – Teses. I. Zucareli, Claudemir. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título. CDU 633.15

DANILO PINCELI CHAVES

**FONTES DE FÓSFORO ASSOCIADAS À RIZOBACTÉRIAS DO
GÊNERO *Pseudomonas* NA CULTURA DO MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Alexandre José Cattelan
Embrapa Soja – Londrina – PR

Dr. José Salvador Simonetti Foloni
Embrapa Soja – Londrina – PR

Prof. Dra. Maria de Fátima Guimarães
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Gustavo Adolfo de Freitas
Fregonezi
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Claudemir Zucareli
UEL – Londrina – PR

Londrina, 28 de fevereiro de 2011.

OFEREÇO

Ao Seu Chaves e à Dona Neusa.

DEDICATÓRIA

À Patrícia, por tudo.

AGRADECIMENTOS

À Jesus, por ser meu fiel escudeiro.

Aos meus pais, Manoel Márcio Chaves e Neusa Maria Pinceli Chaves, pelo amor e carinho, incentivo e suporte.

Ao estimado Prof. Dr. Claudemir Zucareli, pela orientação, acompanhando cada etapa, atencioso para cada dúvida, disponível e acessível nos e-mails. Agradeço pelos conhecimentos adquiridos na fitotecnia, na estatística, na redação científica, no perfeccionismo. Sobretudo, pela paciência, exigência, competência, amizade e confiança.

Ao pesquisador Dr. Adilson de Oliveira Junior, pela oportunidade em conhecer a verdadeira fertilidade do solo, pelo estímulo dado à leitura! Pela atenção, pelo acesso à materiais renomados, conhecimentos de estatística. Agradeço pela notável contribuição para esta dissertação. Sobretudo, pela confiança e amizade.

Aos pesquisadores Dr. Elemar Voll e Dr. Dionísio Luiz Pisa Gazziero, que me incentivaram a me candidatar ao mestrado. Agradeço pela indicação, suporte e confiança.

Aos pesquisadores Dr. César de Castro e Dr. Fábio Álvares de Oliveira, pela acessibilidade e conhecimento.

À Universidade Estadual de Londrina, por me acolher.

Ao pesquisador Dr. Alexandre José Cattelan, pelo conhecimento transmitido e disponibilização das estirpes P21 e GN 2214.

À Fundação Araucária, pelo apoio financeiro para executar este trabalho.

À Itafós Mineração, pela disponibilização do fosfato Itafós.

À Rizobacter, pelo fornecimento da Estirpe 1008.

Ao Lucas Costa Balan e Lenon Augusto Prado, que foram imprescindíveis para as análises do experimento em casa de vegetação.

Aos amigos, Adriana Pereira da Silva, Allan Ricardo Domingues, André Mateus Prando, Beatriz Kraemer, Carla Horing, Denis Piazzoli, Diogo Antônio Moreira, Guilherme Garcia Gaspar, Guilherme Rossi das Neves, Gustavo Migliorini de Oliveira, Lenio César Camargo, Lucas Sônego da Silva, Luciana Costa, Luiz Tadeu Jordão, Paulo Vicente Contador Zaccheo, Renato Resende, Stanislas Mayi III e Tito César Camargo, que de alguma maneira me ajudaram, como na instalação dos experimentos e suas avaliações, no fornecimento de materiais ou nos trabalhos e seminários das disciplinas.

Ao Zucca, Miguel, Fábio, Sérgio, Fernandinho, Seu Mauro, Thiago, Edilson, Rinaldo, João, pela total disponibilidade.

Ao Joviano, pela inteira disponibilidade, companhia, confiança e amizade.

A todos do laboratório de Ecofisiologia, principalmente ao Nei e à Bianca, pela atenção, disponibilidade e competência em me ajudar nas análises da raiz.

Ao Bié, Irmão, Geraldo e Cícero, pela disponibilidade.

Ao Neto e Galdino, que foram meus companheiros de república.

Aos meus familiares, Erse Adolfo Chaves, Leonilda Pinto Pinceli, Larissa Pinceli Chaves, Mariana Pinceli Chaves, Loide Corina Chaves, Julia Dutra de Freitas, Ilze Aparecida Frezarine Roco, que me deram suporte durante este período.

Finalmente, à todos que, de alguma forma, fizeram parte de mais uma etapa da minha vida.

MUITO OBRIGADO

Mesmo estando na estrada certa, você será
atropelado se ficar apenas sentado nela.

(Will Rogers)

CHAVES, Danilo Pinceli. **Fontes de fósforo associadas à rizobactérias do gênero *Pseudomonas* na cultura do milho.** 2011. 154 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

RESUMO

Embora o alto teor de P_2O_5 total nos solos brasileiros, a dinâmica química torna limitada a disponibilidade desse elemento no solo. A utilização de fosfatos naturais associados a fosfatos solúveis, assim como a inoculação de rizobactérias podem ser alternativas para melhorar a disponibilização de P às plantas. Assim, 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 vegetativo e radicular, na disponibilidade de P no solo e nos componentes de produção das plantas de milho. Nesse sentido, realizou-se um experimento a campo e dois em casa de vegetação. O experimento a campo foi conduzido na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, em esquema fatorial 6x2, em blocos casualizados. Foram aplicados 120 kg ha^{-1} de P via solo por meio de cinco fontes: Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato de Gafsa, Fosfato Itafós, SFT+Gafsa e SFT+Itafós, além do tratamento controle (sem P), associados a dois níveis de inoculação (com e sem) com *Pseudomonas fluorescens* da Estirpe 1008. No florescimento avaliou-se: altura de plantas (AP), altura da inserção da espiga (AIE), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF), massa seca de folhas (MSF), massa seca total (MST) e teor de P foliar (PF). Na colheita, avaliou-se: número de grãos por espiga (NG), massa de 100 grãos (M100), teor de P nos grãos (PG), produtividade de grãos (PROD), índice de colheita (IC) e eficiência agrônômica relativa (EAR). Os experimentos na casa de vegetação, foram conduzidos na Embrapa Soja, em esquema fatorial 6x3 em blocos casualizados. Foram aplicados 50 mg dm^{-3} de P via solo utilizando as mesmas fontes que foram utilizadas para o experimento a campo, associadas a três níveis de inoculação: sem, *Burkholderia pickettii* GN 2214 e *Pseudomonas* sp. do grupo Fluorescente P21. No florescimento avaliou-se: AP, DC, AF, concentração de P na MSPA (CP), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), MST, teor de P acumulado na MSPA (PA), relação raiz/parte aérea (MSR/MSPA) e EAR. Em quatro camadas do solo (0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm) avaliou-se: área radicular (AR), diâmetro médio radicular (DR), comprimento radicular (CR), volume radicular (VR), massa seca de raiz (MSR), pH do solo (pH), teor de P no solo (PS) e pH da rizosfera (pHR). A estirpe 1008 proporcionou incrementos para AIE e AP quando utilizado SFT. Não houve efeito para fontes de P e inoculantes na PROD. SFT+Gafsa e SFT+Itafós proporcionaram maior desenvolvimento para AP, DC, AF, MSPA, MSR, MST, PA e EAR em relação aos fosfatos naturais aplicados. A estirpe P21 promoveu MSPA e MST, e GN 2214 a MSR, quando associadas ao SFT. SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós favoreceram a AR, DR, CR, VR e MSR. SFT+Itafós e SFT+Gafsa consistiram em novas opções de fontes para a adubação fosfatada, e possuem o potencial de proporcionar o desenvolvimento vegetativo e radicular, devido à maior disponibilização de P à solução do solo.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Disponibilidade de P. Promoção de crescimento. Fosfato natural. Rizosfera.

CHAVES, Danilo Pinceli. **Phosphorus sources associated with rhizobacteria of the genus *Pseudomonads* in corn.** 154 f. 2011. Dissertation (Master's Degree in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

ABSTRACT

Although the high P_2O_5 content in Brazilian soils, the chemical dynamics become it limited availability in soil. The use of natural phosphates associated with soluble phosphates, as well as the inoculation of rhizobacteria can be options to improve the availability of P for plants. Thus, the study aimed to evaluate the effect of soluble and natural phosphates associated with the inoculation of rhizobacteria *Pseudomonads* via seeds, in the vegetative and root development, availability of P in soil and yield components of corn. In this sense, there was a field experiment and two in the greenhouse. The field experiment was conducted at the Farm School of State University of Londrina, in 6x2 factorial design in randomized blocks. Were applied 120 kg ha^{-1} P in the soil through five sources: Triple superphosphate (SFT), Gafsa Phosphate, Itafos Phosphate, SFT+Gafsa and SFT+Itafos, beyond the control treatment (no P), associated with two inoculation levels (with and without) with the *Pseudomonas fluorescens* strain 1008. At flowering were evaluated: plant height (AP), height of ear insertion (AIE), stem diameter (DC), leaf area (AF), leaf dry mass (MSF), total dry matter (MST) and leaf P content (PF). At harvest, we evaluated: number of kernels per ear (NG), weight of 100 grains (M100), P content in grain (PG), yield (PROD), harvest index (IC) and relative agronomic effectiveness (EAR). The experiments in a greenhouse were conducted at Embrapa Soybean, 6x3 factorial block design. Were applied 50 mg dm^{-3} P in the soil using the same sources that were used for the field experiment, associated with three inoculation levels: without, *Burkholderia pickettii* GN 2214 and *Pseudomonas* sp. the Fluorescent group P21. At flowering were evaluated: AP, DC, AF, P concentration in MSPA (CP), shoot dry weight (MSPA), root dry weight (MSR), MST, the P accumulated in MSPA (PA), root/shoot (MSR/MSPA) and EAR. In four soil layers (0-10, 10-20, 20-30 and 30-40 cm) were evaluated: root area (AR), root mean diameter (DR), root length (CR), root volume (VR), root dry weight (MSR), soil pH (pH), P concentration in soil (PS) and pH in the rhizosphere (pHR). The strain 1008 provide increments to AIE and AP when used SFT. There was no effect of P sources and inoculants in PROD. SFT+Gafsa and SFT+Itafos provided greater development for AP, DC, AF, MSPA, MSR, MST, PA and EAR in relation to natural phosphates applied. The strain P21 promoted MSPA and MST, and the GN 2214, the MSR, when associated with SFT. SFT, SFT+Gafsa and SFT+Itafos favored the AR, DR, CR, VR and MSR. SFT+Itafos and SFT+Gafsa consisted of new source options for P fertilization, and have the potential to provide plant growth and root, due to greater availability of P to the soil solution.

Keywords: *Zea mays* L. P availability. Growth promotion. Natural phosphate. Rhizosphere.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1** – Ciclo da cultura, dados diários de precipitação pluvial e temperaturas máximas, médias e mínimas durante a condução do experimento para a cultura do milho, safra 2009/2010 (S=semeadura, E=emergência, F=florescimento pleno, C=colheita). (Fonte: IAPAR, 2010)59
- Figura 3.2** – Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação via sementes de *P. fluorescens* para altura de plantas de milho (AP)67
- Figura 3.3** – Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação via sementes de *P. fluorescens* para teor de P foliar em milho (PF)69
- Figura 3.4** – Eficiência Agronômica Relativa (EAR) para produtividade de grãos (PROD)73
- Figura 4.1** – Eficiência Agronômica Relativa (EAR) para massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca total (MST) e teor de P acumulado na planta (PA)100
- Figura 5.1** – Dados médios de área radicular (AR) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm120
- Figura 5.2** – Dados médios de diâmetro radicular (DR) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm121
- Figura 5.3** – Dados médios de comprimento da raiz (CR) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm123
- Figura 5.4** – Dados médios de volume da raiz (VR) de plantas de milho mediante em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm124
- Figura 5.5** – Dados médios de massa seca da raiz (MSR) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm125

Figura 5.6 – Dados médios de pH do solo (pH) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm	126
Figura 5.7 – Dados médios do teor de P do solo (PS) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm	128
Figura 5.8 – Dados médios de diâmetro de raiz (DR) de plantas de milho na camada 20-30 cm em função de níveis de inoculação	130

LISTA DE TABELAS

- Tabela 3.1** – Concentração de P_2O_5 total, solubilidades de P_2O_5 das fontes de P utilizadas em ácido cítrico a 2% (A.C.) relação 1:100, em citrato neutro de amônio + H_2O (CNA+ H_2O) e em H_2O 60
- Tabela 3.2** – Características químicas do solo da área experimental na profundidade 0-20 cm61
- Tabela 3.3** – Dados médios de área foliar (AF), altura de planta (AP), altura de inserção da espiga (AIE), diâmetro do colmo (DC), massa seca foliar (MSF), massa seca total (MST) e teor de P foliar (PF) em plantas de milho em função de diferentes fontes de P, com e sem a inoculação de *Pseudomonas fluorescens*64
- Tabela 3.4** – Dados médios número de grãos por espiga (NG), massa de 100 grãos (M100), teor de P nos grãos (PG), produtividade de grãos (PROD) e índice de colheita (IC) em plantas de milho em função de diferentes fontes de P, com e sem a inoculação de *Pseudomonas fluorescens*71
- Tabela 4.1** – Concentração de P_2O_5 total, solubilidades de P_2O_5 das fontes de P utilizadas em ácido cítrico a 2% (A.C.) relação 1:100, em citrato neutro de amônio + H_2O (CNA+ H_2O) e em H_2O 87
- Tabela 4.2** – Características químicas e físicas do solo da área experimental na profundidade 0-20 cm87
- Tabela 4.3** – Dados médios de altura de planta (AP), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF), concentração do P na MSPA (CP) e teor de P acumulado (PA) em plantas de milho em função de diferentes fontes de P e níveis de inoculação com bactérias do gênero *Pseudomonas*91
- Tabela 4.4** – Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* para altura de plantas (AP) e área foliar (AF)93
- Tabela 4.5** – Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* para concentração de P na MSPA (CP)95

Tabela 4.6 – Dados médios de massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST), teor de P acumulado (PA) e relação MSR/MSPA em plantas de milho em função de diferentes fontes de P e níveis de inoculação com bactérias do gênero <i>Pseudomonas</i>	96
Tabela 4.7 – Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação via sementes de <i>P. fluorescens</i> em plantas de milho para massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST)	97
Tabela 5.1 – Concentração de P ₂ O ₅ total, solubilidades de P ₂ O ₅ das fontes de P utilizadas em ácido cítrico a 2% (A.C.) relação 1:100, em citrato neutro de amônio + H ₂ O (CNA+H ₂ O) e em H ₂ O	116
Tabela 5.2 – Características químicas e físicas do solo da área experimental na profundidade 0-20 cm	116
Tabela 5.3 – Resultados obtidos pela análise de variância para as variáveis área radicular (AR), diâmetro radicular (DR), comprimento radicular (CR), volume radicular (VR), massa seca de raiz (MSR), pH do solo (pH) e teor de P no solo (PS), para as camadas 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm em função de fontes de P e níveis de inoculação com rizobactérias	119
Tabela 5.4 – Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero <i>Pseudomonas</i> para diâmetro de raiz de milho (DR), pH do solo (pH) e teor de P no solo (PS) na camada 10-20 cm	131
Tabela 5.5 – Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação via sementes de <i>P. fluorescens</i> em sementes de milho para volume radicular (VR) e teor de P no solo (PS), na profundidade 30-40 cm	133
Tabela 5.6 – Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero <i>Pseudomonas</i> para pH da rizosfera (pHR).....	134

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	A Cultura do Milho	19
2.2	Importância Econômica da Cultura do Milho	20
2.3	P no Solo	22
2.4	P na Planta	24
2.5	Fontes de P	27
2.6	Composição e Reatividade dos Fosfatos Naturais	28
2.7	Eficiência Agronômica dos Fosfatos Naturais	30
2.8	O Ambiente Rizosférico	33
2.9	O Gênero <i>Pseudomonas</i>	35
2.10	Inoculação com RPCPs	37
2.11	Promoção do Crescimento por Rizobactérias	38
2.12	Solubilização de Fosfatos Minerais	41
	REFERÊNCIAS	44
3	ARTIGO A – FONTES DE P ASSOCIADAS À INOCULAÇÃO COM <i>Pseudomonas fluorescens</i> NO DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DO MILHO	55
3.1	INTRODUÇÃO	56
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	59
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
3.4	CONCLUSÃO	75
3.5	REFERÊNCIAS	76
4	ARTIGO B – FONTES DE P ASSOCIADAS À INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS DO GÊNERO <i>Pseudomonas</i> NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO	82
4.1	INTRODUÇÃO	84
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	86
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	91

4.4	CONCLUSÃO	102
4.5	REFERÊNCIAS	104
5	ARTIGO C – FONTES DE P ASSOCIADAS À RIZOBACTÉRIAS NO DESENVOLVIMENTO RADICULAR DO MILHO E NA DISPONIBILIDADE DE P NO SOLO	110
5.1	INTRODUÇÃO	112
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	115
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	119
5.4	CONCLUSÃO	136
5.5	REFERÊNCIAS	137
6	CONCLUSÕES GERAIS	143
	APÊNDICES	144
APÊNDICE A –	Figuras das Raízes de Milho nas camadas 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm.	145
Apêndice A.1 –	Imagens formadas ao serem escaneadas para avaliações radiculares pelo programa Delta-T Scan (T1 a T6)	145
Apêndice A.2 –	Imagens formadas ao serem escaneadas para avaliações radiculares pelo programa Delta-T Scan (T7 a T12)	146
Apêndice A.3 –	Imagens formadas ao serem escaneadas para avaliações radiculares pelo programa Delta-T Scan (T13 a T18)	147
APÊNDICE B –	Sintomas de deficiência de P (30 DAE)	148
Apêndice B.1 –	T3-Controle + P21	148
Apêndice B.2 –	T7-Gafsa + GN 2214	148
Apêndice B.3 –	T10-Itafós S/Inoc	148
Apêndice B.4 –	T12-Itafós + P21	148
APÊNDICE C –	Final do Experimento	149
Apêndice C.1 –	Controle: S/Inoc, GN2214 e P21	149
Apêndice C.2 –	Itafós: S/Inoc, GN2214 e P21	149
Apêndice C.3 –	SFT: S/Inoc, GN 2214 e P21	149
Apêndice C.4 –	Gafsa: S/Inoc, GN 2214 e P21	149
Apêndice C.5 –	SFT+Gafsa: S/Inoc, GN 2214 e P21	149

Apêndice C.6 –	SFT+Itafós: S/Inoc, GN 2214 e P21	149
Apêndice C.7 –	(SFT, Gafsa e Itafós) S/Inoc	150
Apêndice C.8 –	(SFT, Gafsa e Itafós) + GN 2214	150
Apêndice C.9 –	(SFT, Gafsa e Itafós) +P21	150
Apêndice C.10 –	SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós: S/Inoc	150
Apêndice C.11 –	SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós: GN 2214	150
Apêndice C.12 –	SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós: P21	150
APÊNDICE D –	Desmonte dos vasos	151
Apêndice D.1 –	Desmonte T1 – Controle S/Inoc	151
Apêndice D.2 –	Canos serrados para o auxílio do desmonte e para o tombamento das colunas	151
Apêndice D.3 –	Distribuição radicular no perfil 0-40 cm (T12-Itafós + P21) ...	151
Apêndice D.4 –	Distribuição radicular no perfil 0-40 cm (T7-Gafsa S/Inoc	151
APÊNDICE E –	Separação radicular do perfil da camada 0-40 cm (T8- Gafsa+GN2214)	152
Apêndice E.1 –	Coluna de solo sendo desmontada	152
Apêndice E.2 –	Distribuição radicular no fundo da coluna	152
Apêndice E.2 –	Separação radicular da camada 0-10 cm	152
Apêndice E.3–	Separação radicular da camada 10-20 cm	152
Apêndice E.4 –	Separação radicular da camada 20-30 cm	152
Apêndice E.5 –	Separação radicular da camada 30-40 cm	152
APÊNDICE F –	Separação radicular do perfil da camada 0-40 cm (T13- SFT+Gafsa S/Inoc)	153
Apêndice F.1 –	Distribuição radicular pelo perfil T13-SFT+Gafsa S/Inoc	153
Apêndice F.2 –	Separação radicular da camada 0-10 cm	153
Apêndice F.3 –	Separação radicular da camada 10-20 cm	153
Apêndice F.4 –	Separação radicular da camada 20-30 cm	153
Apêndice F.5 –	Separação radicular da camada 30-40 cm	153

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho está entre as mais cultivadas no país, constituindo um dos principais insumos para o segmento produtivo animal (farelo, ração e silagem), e uma matéria-prima com ampla demanda na produção industrial (papel, têxtil, cervejas, fármacos, etc).

Como exigência nutricional para o seu pleno crescimento e desenvolvimento, o P (P) apresenta papel fundamental sendo absorvido do solo pela planta desde a germinação das plântulas até a proximidade da maturação fisiológica dos grãos (COELHO; ALVES, 2004). Quando há escassez do P no solo, o crescimento retarda e os colmos e as folhas tornam-se arroxeados. Em geral, é baixa a disponibilidade deste macronutriente na solução do solo, em decorrência da baixa solubilidade dos compostos de P existente no solo, e da alta capacidade de fixação deste elemento principalmente por Fe^{+3} e Al^{+3} . Embora exigido em quantidades menores do que nitrogênio e potássio, o P é quem mais limita a produtividade de culturas na maioria dos solos não adubados (GRANT et al., 2001).

Dentre as opções de fonte de P no mercado, os fertilizantes fosfatados totalmente acidulados se destacam, principalmente, pelo menor custo por unidade de P presente nesses compostos. Os principais fertilizantes fosfatados totalmente acidulados pertencem ao grupo dos superfosfatos, constituído pelo simples e pelo triplo, ou ao dos fosfatos amoniados, constituído pelo fosfato monoamônico (MAP) e pelo diamônico (DAP).

Como alternativa ao uso dos superfosfatos, os fosfatos naturais têm sido amplamente estudados nos últimos anos, em decorrência do aumento da oferta no mercado brasileiro. Dentre estes fosfatos naturais, os que possuem origem sedimentar (quando reativos) apresentam em sua estrutura alto grau de substituições isomórficas do fosfato por carbonato na apatita, resultando num cristal imperfeito, poroso, e de maior solubilização.

Na busca da autosuficiência em fertilizantes, comprovou-se que há no Brasil jazidas e depósitos de fertilizantes fosfatados e potássicos suficientes para o abastecimento interno. Com relação às jazidas fosfatadas, o fosfato Itafós (sedimentar não reativo), explorado em Goiás pela Itafós Mineração[®], é um

fertilizante fosfatado novo no mercado, constituindo-se em alternativa para os sistemas de produção agrícolas.

Este fosfato também poderá ser utilizado como matéria prima para a fabricação direta de fertilizantes (ataque sulfúrico para produção de superfosfato simples), ou indireta (ataque sulfúrico para obtenção de ácido fosfórico e posterior produção de superfosfato triplo ou fosfatos de amônio). Outra opção é a aplicação conjunta com fosfatos solúveis, diminuindo a utilização dos fosfatos acidulados, que com o tempo tendem a se fixarem no solo (de textura argilosa), e aumentando o uso dos naturais, a qual liberam o P para a solução do solo de forma gradual. Nestas combinações, a eficiência agronômica relativa (EAR) destes fosfatos é elevada devido à concentração de P solúvel presente nos fosfatos acidulados, gerando maior potencial em disponibilizar o P do solo às plantas (GOEDERT; LOBATO, 1980).

Fosfatos naturais de maior reatividade, como o Gafsa, têm-se mostrado tão ou mais eficientes para suprir P para as plantas de ciclo curto quanto às formas mais solúveis, como os superfosfatos.

Assim como o uso de fosfatos naturais, a utilização de inoculantes como as Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs) é também uma alternativa para reduzir os custos, além de ser favorável à produção agrícola, tornando-se um produto mais competitivo e diferenciado.

Com o intuito de aumentar a eficiência da utilização de P nos sistemas agrícolas, tem havido maior interesse pela manipulação das rizobactérias, que apresentam grande potencialidade de uso. Considerando o consequente benefício que se dá ao P no solo, devido seu grande potencial de promoção de crescimento do sistema radicular e de solubilização de fosfatos inorgânicos, a associação das rizobactérias aos fosfatos naturais reativos pode contribuir para a melhor eficiência dessas fontes alternativas de fosfato.

Dentre as rizobactérias do gênero *Pseudomonas*, várias espécies podem ser utilizadas como inoculantes objetivando estas atividades específicas. *Pseudomonas fluorescens* e *Burkholderia picketti* pertencem a este gênero, e podem potencializar o crescimento das plântulas e do sistema radicular de milho, maximizando a produção de grãos e disponibilizando o P para a nutrição da cultura. Assim, a determinação do comportamento fisiológico e agronômico do milho sob inoculação com RPCPs pode contribuir para a consolidação de tecnologias de uso dessas bactérias na agricultura bem como, abrir novas linhas de pesquisa na área.

O objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento e o desempenho produtivo do milho em resposta à aplicação de fontes solúveis e naturais de P associadas à inoculação das sementes com rizobactérias do gênero *Pseudomonas*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura do Milho

O milho (*Zea mays* L.) é a planta cultivada que atingiu o mais elevado estágio da domesticação, ocupando lugar de destaque como principal alimento dos vários povos e civilizações americanas. Expandiu-se, até ocupar praticamente todos os continentes, em consequência da seleção do homem e da seleção natural. Assim, a espécie *Zea mays* L. foi se diversificando, reconhecendo-se hoje cerca de 250 raças (PATERNIANI, 1993).

A produção de milho, no Brasil, tem se caracterizado pelo cultivo em duas épocas. Os cultivos de verão ou primeira safra são realizados na época tradicional, durante o período chuvoso, o que varia entre fins de agosto na região Sul, até os meses de outubro/novembro no Sudeste e no Centro-Oeste, enquanto no Nordeste, este período ocorre no início do ano (EMBRAPA, 2010). Porém, em certos anos as chuvas atrasam de tal maneira, que as semeaduras têm de ser realizadas, em grande parte, em dezembro (PATERNIANI, 1993).

O cultivo de safrinha, ou segunda safra, refere-se ao milho de sequeiro, semeado em fevereiro ou março, quase sempre depois da soja precoce, predominantemente na região Centro-Oeste e nos estados do Paraná, de São Paulo e de Minas Gerais (EMBRAPA, 2010).

A cultura do milho está distribuída por todo o país e há grande diferença no rendimento de grãos em função das tecnologias adotadas e da capacidade gerencial dos produtores. Verificou-se em 2009, que em 1.095 lavouras em diversas regiões do país, a média de produtividade foi de 11.034 kg ha⁻¹, com variações de 8.000 a 16.000 kg ha⁻¹ (EMBRAPA, 2009).

Vários fatores contribuem para que a produtividade brasileira de milho não alcance patamares mais satisfatórios. Dentre eles pode-se citar a utilização de pouca ou nenhuma tecnologia, em função do baixo nível de capitalização dos pequenos produtores (BÜLL, 1993), a baixa densidade de semedura, a implantação da cultura fora da época adequada, o uso de cultivares

com baixa adaptação à região ou ao sistema de produção, a correção e adubação do solo sem análise prévia e o baixo uso de fertilizantes (EMBRAPA, 2009).

Uma das formas de se aumentar a produtividade da cultura é, sem dúvida, a nutrição mineral adequada, por meio de programas de adubação que considerem, além da quantidade de fertilizante fornecida, também o balanço entre os nutrientes requeridos (BÜLL, 1993). Por sua vez, refere-se ao conhecimento das relações de absorção de N, P e K pela cultura em diferentes níveis de produtividade (COELHO; ALVES, 2004), aliado a condições climáticas, adequadas, principalmente em termos de precipitação pluviométrica (BÜLL, 1993). Assim, a recomendação de N, P e K para o milho deveria ser, respectivamente na proporção, 1:0,5:1 (COELHO; ALVES, 2004).

2.2 Importância Econômica da Cultura do Milho

A importância econômica do milho é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, com destaque para o arraçamento de animais, em especial para suínos, aves e bovinos. Neste caso, o milho é usado tanto na forma *in natura*, como na forma de farelo, de ração ou de silagem (SARTORI et al., 2002). A silagem do milho é considerada a mais rica em energia, por apresentar bom rendimento de matéria verde, sendo de excelente qualidade na fermentação e pela manutenção do valor nutritivo da massa ensilada, além da boa aceitação por parte dos animais (RIBEIRO et al., 2002).

As indústrias de milho no Brasil processam 10% da produção nacional e movimentam um mercado de cerca de R\$ 1,5 bilhão por ano, atendendo principalmente as empresas européias e asiáticas estabelecidas no Brasil. Além disso, o milho é matéria-prima para uma centena de outros produtos usados pelas indústrias de papel e têxteis. Também possui utilização na produção de cerveja e em artigos farmacêuticos e, comumente empregado na forma *in natura*, como milho verde, e na forma de subprodutos, como pão, farinha e massas (PINAZZA, 1993), além de *grits*, fubá, canjica, óleo, amido, amilose, amilopectina, zeína e fibras (GONÇALVES et al., 2003).

Do milho, também se faz combustível, como o etanol. Os EUA produzem a partir do amido do milho um volume de etanol semelhante ao brasileiro, um procedimento que é reconhecidamente menos eficiente em termos de balanço energético e econômico, que o do etanol produzido a partir da cultura da cana-de-açúcar no Brasil (HOFFMANN, 2006). Nos Estados Unidos, as previsões de uso do milho para a produção de etanol foram incrementadas em cerca de 2,5 milhões de toneladas, totalizando 109 milhões de toneladas (mais do que duas safras brasileiras) (GARCIA; DUARTE, 2010).

A produção de etanol a partir do milho está na ascendente, resultando na pressão crescente sobre a produção americana deste cereal, reduzindo os estoques e criando um ambiente propício para incertezas sobre a capacidade da próxima safra americana em atender esta demanda. Como os estoques estão muito baixos em relação ao consumo interno (a relação estoque/consumo está em 5,5%, a mais baixa desde 1995/96), cada nova safra é um recomeço (GARCIA; DUARTE, 2011).

Segundo o Departamento de Economia Rural (DERAL), a estimativa da produção de milho verão para a safra 2010/11 no Paraná é de 5,34 milhões de toneladas, 21,0% a menos que a safra anterior, com produtividade média estimada de 7.600 kg ha⁻¹. Esta baixa produção será devido à drástica redução da área cultivada (apenas 735 mil ha), a menor desde a década de 60 (PARANÁ, 2011).

O Brasil, terceiro maior produtor mundial deste cereal, deverá colher nos dois cultivos da safra 2010/2011 52,72 milhões de toneladas, 7,5% a menos que o ano anterior. A produtividade média prevista para a primeira safra (verão) está em 4.236 kg hectare⁻¹, 4,0% menor que a alcançada na safra 2009/10.

Quanto ao milho Segunda Safra (safrinha), este poderá sofrer as consequências com o atraso das chuvas nas regiões produtoras do Centro Oeste, uma vez que atrasou a semeadura da soja prejudicando a implantação das variedades precoces, as quais permitem a semeadura do milho no mês de janeiro e primeira quinzena de fevereiro (CONAB, 2011).

Previsões a longo prazo (até 2019) para a cultura do milho indicam que o mercado internacional continuará crescendo, principalmente na América Latina, México, África e Oriente Médio. Considerações ambientais relacionadas à geração de dejetos de animais confinados irão restringir as importações de milho para a alimentação animal no leste da Ásia. Os Estados Unidos continuarão sendo

os maiores exportadores de milho, seguidos pela Argentina, Brasil e pelos países da antiga União Soviética (principalmente Ucrânia). A China tornar-se-á um pequeno importador líquido de milho (GARCIA; DUARTE, 2010).

2.3 P no Solo

O P é considerado o nutriente fundamental para a produção das principais culturas. Na maioria dos solos brasileiros o teor de P disponível é baixo, apesar do P total estar presente em quantidades razoáveis (50 a 350 mg dm⁻³) (COELHO; FRANÇA, 1995). Dentre os nutrientes, o P é o mais aplicado em termos de quantidades de adubação no Brasil (VALE et al., 1993).

Predominantemente, o P é absorvido na forma iônica como H₂PO₄⁻. O ácido fosfórico (H₃PO₄) produz por dissociação, três formas iônicas H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻ e PO₄³⁻ (MARSCHNER, 1995a).

No solo, o P é encontrado em duas formas principais: inorgânica (Pi) e orgânica (Po). As formas de Pi compreendem, principalmente aquelas adsorvidas aos grupos funcionais dos colóides inorgânicos, por meio de ligações monodentadas (um oxigênio do fosfato é ligado ao metal), bidentadas (dois oxigênios são ligados ao metal) e binucleadas (dois oxigênios do fosfato são ligados a dois átomos do metal) formando diferentes compostos e com diferentes graus de estabilidade química (SANTOS; GATIBONI; KAMINSKI, 2008). A fração Pi presente no solo consiste em minerais insolúveis e ânions fosfatos adsorvidos a hidróxidos de Fe e Al, silicatos de Al e carbonatos de Ca (MENDES; REIS JUNIOR, 2003). Sendo assim, a energia de ligação com os colóides aumenta a sua labilidade, nesta e na ordem inversa (GATIBONI et al., 2008). A solubilidade de P é controlada por fosfato de cálcio em pH acima de 7,0 e por fosfato de ferro e alumínio, em pH inferior a 7,0 (LINDSAY et al., 1977).

As principais formas de Po já identificadas são os fosfatos de inositol (RODRIGUEZ; FRAGA, 1999), que compõem de 10 a 50% do Po total, os fosfolipídios (0,5 a 7%), os ácidos nucleicos (~3%) e outros esteresfosfatos (>5%) (MENDES; REIS JUNIOR, 2003). A utilização do Po como fonte de P às plantas

pode ser maximizada quando resíduos vegetais são lentamente decompostos, de forma a proporcionar sincronismo entre a disponibilidade de P e o crescimento da planta (MARTINAZZO et al., 2007).

Quando se utiliza a técnica do fracionamento das formas de P do solo, tem-se observado que os fertilizantes adicionados ao solo se acumulam principalmente em formas inorgânicas (RHEINHEIMER; ANGHINONI, 2001). O P do solo, de interesse agrônômico ou ambiental, é constituído por compostos derivados do ácido ortofosfórico e, menos comumente, dos pirofosfatos (SANTOS; GATIBONI; KAMINSKI, 2008).

A concentração de P em solução, normalmente, é muito baixa e, com a absorção pelos vegetais, há reposição do P em solução pela fração de P lábil. A fração de P lábil representa o P adsorvido em equilíbrio com o P em solução. Em solos tropicais, a adsorção de P verifica-se em argilas 1:1 e em óxidos de ferro e alumínio (hematita, goetita e gibsita) (FORNASIERI FILHO, 2007). A perda de P pela remoção das culturas pode reduzir significativamente os teores de P lábil e o total de P no solo. A adição de fosfatos de rocha tende a aumentar o total de P no solo com o potencial para reabastecer P lábil para as plantas (ALLOUSH; CLARK, 2001). Somente uma pequena fração do P na fase sólida permanece na forma lábil, podendo tornar-se fortemente fixado no solo ou participar das reações de precipitação (ARCAND; SCHNEIDER, 2006).

Em solos com baixa ou nenhuma adição de fertilizantes fosfatados, as formas orgânicas de P são as principais responsáveis pelo fornecimento deste nutriente às plantas (GATIBONI et al., 2007). Como a lixiviação de P pelas águas praticamente inexistente em solos minerais, ele tende a se acumular no solo nas camadas superficiais (COELHO; FRANÇA, 1995). Este efeito da adubação corretiva perdura por vários anos, principalmente quando se utilizam fosfatos de liberação lenta, como os fosfatos naturais não reativos (GOEDERT; LOBATO, 1984).

Os Latossolos apresentaram altos teores de P total, com predomínio das formas associadas aos óxidos de ferro, e de P ligado a compostos orgânicos, P adsorvido à superfície de óxidos e de P associado a compostos de ferro de baixa cristalinidade (ALMEIDA; TORRENT; BARRÓN, 2003). A adsorção do P ocorre primeiramente nos sítios com maior afinidade e, posteriormente, o P remanescente é redistribuído em frações retidas com menor energia e de maior disponibilidade para as plantas (RHEINHEIMER; ANGHINONI, 2001).

Em solos onde predominam caulinita e óxidos de Fe e Al, como nos Latossolos, o processo de fixação diminui a quantidade de P inorgânico na fração lábil, devido à alta energia de ligação entre o ânion fosfato e os grupos funcionais de superfície mineral (MARTINAZZO et al., 2007). Outra característica importante destes solos é sua riqueza em sesquióxidos, gibsitita e caulinita, cuja quantidade de cargas negativas é baixa, resultando em baixa CTC. Em alguns casos apresentam cargas positivas, aumentando a adsorção de ânions como o ortofosfato (FERNANDES; MURAOKA, 2002).

Solos ácidos e com alta saturação por Al apresentam problemas na solubilidade de seus compostos, sendo que, no caso do P, com o abaixamento do pH ocorre diminuição em sua disponibilidade para as plantas (FERNANDES; MURAOKA, 2002).

Segundo Coelho e França (1995), os níveis críticos de P (Mehlich-1) para solos de textura argilosa, média e arenosa, são respectivamente, 5, 10 e 20 mg dm⁻³, tendo como recomendação a aplicação de 80 a 110 kg ha⁻¹ de P₂O₅, para o cultivo do milho.

2.4 P na Planta

A produtividade das culturas depende do adequado suprimento de nutrientes, sendo o fornecimento de P via adubação uma prática essencial nos solos brasileiros (NOVAIS; SMYTH; NUNES, 2007).

Uma das principais funções do P na planta, como integrante da molécula do ATP, envolve a síntese de fotoassimilados, armazenamento e transferência da energia química captada da luz solar via fotossíntese, além dos processos metabólicos (HAVLIN et al., 2005). Desta forma, todos os processos metabólicos da planta que envolvem gasto de energia, desde a absorção de nutrientes até a formação dos diferentes órgãos, incluem a participação direta ou indireta do P (BEN-GAL; DUDLEY, 2003). O P é um nutriente móvel no floema, sendo o mais prontamente distribuído para outras partes da planta, em particular aos

órgãos novos em crescimento, vegetativos ou reprodutivos, que são drenos preferenciais no desenvolvimento das plantas (NOVAIS; SMYTH; NUNES, 2007).

As respostas à aplicação de P em milho têm sido altas e frequentes devido ao baixo teor de P “disponível” na maioria dos solos brasileiros (COELHO; FRANÇA, 1995). As respostas variam de cultura para cultura, ou mesmo entre cultivares da mesma espécie, sendo umas mais eficientes que outras na absorção do nutriente do solo (RAIJ, 1991). A cultura do milho tem apresentado resposta às fontes de P para produção de biomassa de parte aérea (ERNANI; STECKLING; BAYER, 2001), biomassa radicular (KLEPKER, 1996) e componentes de produção (RIVÉRA-HERNANDEZ et al., 2010).

Embora as exigências do milho em P sejam em quantidades bem menores do que as de N e K, as doses normalmente recomendadas são altas, em função da baixa eficiência (20 a 30%) de aproveitamento desse nutriente pela cultura (COELHO; FRANÇA, 1995).

As quantidades de P recomendadas para adubação de milho na região Sul do Brasil, para teores “muito baixos” e “baixos” situa-se em torno de 110 e 70 kg ha⁻¹ de P₂O₅, respectivamente (BÜLL, 1993). Os teores de P adequados no solo para atingir máximas produtividades em solos de textura média e argilosa varia entre 17-30 e 6-10 mg dm⁻³, respectivamente, para a cultura do milho (COELHO; FRANÇA, 1995; SOUZA et al., 1998). Segundo Raij (1991), para solos com teores muito baixos de P, a aplicação de 80 kg de P₂O₅ ha⁻¹ promoveu aumento de 2000 kg ha⁻¹, na cultura do milho.

Segundo Prado, Fernandes e Roque (2001), a dose de 90 kg ha⁻¹ proporcionou produção de 6,29 toneladas ha⁻¹ de grãos de milho, mostrando-se insuficiente para atingir as maiores produções. Mesmo com aplicação de altas doses de P para a cultura do milho, a produtividade de grãos no primeiro ano varia entre 6 e 8 toneladas ha⁻¹ de grãos (COELHO; ALVES, 2004).

A aplicação dos adubos fosfatados pode ter maior ou menor disponibilização para as plantas em função da aplicação, e depende da textura do solo. Prado, Fernandes e Roque (2001), não obtiveram significância na aplicação a lanço, devido à alta fixação de P quando o solo possui altos teores de argila, uma vez que esta forma leva a um maior contato do P com a fase sólida do solo. Entretanto, na aplicação em sulco simples e sulco duplo, houve efeito significativo

das doses de P, uma vez que o fenômeno da fixação foi reduzido graças ao menor contato do P com o solo.

Os sintomas visuais de deficiência podem constituir um elemento auxiliar na identificação da carência nutricional das culturas (COELHO; FRANÇA, 1995). As plantas de milho, quando deficientes neste nutriente, já nos primeiros estádios de desenvolvimento apresentam crescimento retardado e colmos e folhas com coloração arroxeada (BÜLL, 1993). A deficiência de P prejudica a formação da biomassa vegetal (MOLLIER; PELLERIN, 1999), do colmo (SARKER; KARMOKER; RASHID, 2010), e do índice de área foliar, (PLÉNET; MOLLIER; PELLERIN, 2000). Na fase reprodutiva, a deficiência provoca a formação de espigas tortas e com falhas nas fileiras de grãos, maturação retardada e desuniforme (FORNASIERI FILHO, 2007). Sob a carência deste nutriente, as plantas de milho respondem reduzindo o raio da raiz, parecendo ser um mecanismo para aumentar a área radicular por unidade de massa, melhorando a absorção de P na parte aérea (SCHENK; BARBER, 1979). Outra característica ligada à deficiência do P é o favorecimento do crescimento da raiz em relação à parte aérea, resultando no aumento do valor desta relação (LIU et al., 2004). Isto ocorre devido ao grande estímulo de crescimento radicular em busca de nutrientes, em relação aos decréscimos da parte aérea (MOLLIER; PELLERIN, 1999).

A identificação do nível nutricional da planta só é possível mediante análise química do tecido vegetal produzido. Neste caso, o órgão de controle escolhido mais frequentemente é a folha oposta à inserção da espiga, pois a mesma representa o metabolismo e reflete, na sua composição, as mudanças na nutrição (COELHO; FRANÇA, 1995). A interpretação dos dados da análise foliar pode ser feita considerando o nível crítico do nutriente na folha ou pelo Sistema Integrado de Diagnóstico e Recomendação (DRIS). O nível crítico de um nutriente é definido como a concentração em uma parte específica da planta em um estágio fenológico específico, no qual ocorrem reduções na produção da ordem de 10% (COELHO; ALVES, 2004).

Segundo Coelho e França (1995), o teor foliar de P adequado para a cultura do milho varia de 1,9 a 3,5 g kg⁻¹. Carneiro et al. (2008), observaram maiores teores de P nas folhas do milho (2,5 g kg⁻¹) utilizando SFT em relação ao fosfato de Arad (2,3 g kg⁻¹). Corrêa et al. (2005), relataram maiores valores no teor de P na parte aérea aplicando SFT, em relação ao Gafsa.

Há grande variação na matéria seca produzida por híbridos de milho quando cultivados em solos pobres em P disponível. A produção de matéria seca da parte aérea é resultado de uma associação de fatores, como maior capacidade de absorção de nutrientes, maior eficiência no uso do P, menor exigência de nutrientes disponível no solo, entre outros (FERNANDES; MURAOKA, 2002). As plantas também possuem mecanismos capazes de alterar a disponibilidade de P. Dentre esses se destacam as mudanças do pH da rizosfera, a liberação de ácidos orgânicos, agentes quelantes e fosfatases e as modificações morfológicas denominadas raízes proteóides (grupo de raízes extremamente finas e ramificadas) (MARSCHNER, 1995a).

2.5 Fontes de P

As fontes de P podem ser divididas basicamente em solúveis, pouco solúveis e insolúveis. As primeiras, quando adicionadas ao solo, aumentam rapidamente a concentração do P na solução do solo. 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 lentamente na solução do solo e tendem a aumentar a disponibilidade do P para as plantas com o tempo (KORNDÖRFER; LARA-CABEZAS; HOROWITZ, 1999).

Os fosfatos naturais geralmente são classificados, quanto à sua origem, em ígneos ou vulcânicos (apatitas) e sedimentares (fosforitas e bauxitas fosfóricas). Os de origem ígnea, devido ao seu alto grau de cristalização, são poucos solúveis com menor reatividade para aplicação direta como fertilizante (KAMINSKI; PERUZZO, 1997).

Os fatores mais importantes para a obtenção de bons resultados na aplicação direta dos fosfatos naturais envolvem a superfície específica, a granulometria e a presença de outros minerais na estrutura cristalina da rocha (KORNDÖRFER; LARA-CABEZAS; HOROWITZ, 1999).

O grupo de maior importância econômica e mais conhecido como rocha fosfática ou fosfato natural é o fosfato de cálcio, que pertence à categoria das

apatitas. Apatitas são minerais primários fosfatados comuns em rochas, a qual durante a intemperização são liberados resultando em minerais secundários mais estáveis termodinamicamente, ou incorporados a compostos orgânicos biologicamente (SANTOS; GATIBONI; KAMINSKI, 2008). Nesta categoria encontram-se, entre outros minerais, a fluorapatita e a francolita (HOROWITZ; MEURER, 2004).

É atraente a idéia da utilização de fertilizantes de liberação lenta, considerando sua eficiência como fertilizante e a minimização da poluição ambiental (BOLAN et al., 1997). As misturas de fontes de P, utilizando fosfatos naturais com solúveis constituem uma prática viável de fornecimento deste elemento (PIAIA et al., 2002). Nestas combinações, a eficiência destes fosfatos é elevada devido à concentração de P solúvel presente nos fosfatos acidulados, gerando maior potencial em disponibilizar o P do solo às plantas (GOEDERT; LOBATO, 1980). Pode-se então, ter na fosfatagem corretiva com fosfatos naturais de baixa reatividade, uma preocupação maior com o solo, para que seu teor de P-disponível aumente (com novas aplicações) de maneira gradual, com o tempo, o que poderia ser conseguido com uma fonte de P bem mais barata que as solúveis (NOVAIS; SMYTH; NUNES, 2007).

As fontes mais solúveis de P proporcionam maior ganho inicial de produtividade, ao passo que o prolongado efeito residual das fontes de menor solubilidade pode, com o tempo, compensar a defasagem em relação às primeiras, notadamente no caso dos fosfatos reativos (KAMINSKI; PERUZZO, 1997). Com o tempo, os fosfatos lábeis oriundos de fosfatos solúveis presentes na solução envelhecem adquirindo uma constituição mineralógica mais estável e menor possibilidade de dessorção do fosfato (RAIJ, 1991).

2.6 Composição e Reatividade dos Fosfatos Naturais

Os fosfatos naturais são reconhecidos como matéria prima para a fabricação direta de fertilizantes (ataque sulfúrico para produção de superfosfato simples), ou indireta (ataque sulfúrico para obtenção de ácido fosfórico e posterior

produção de superfosfato triplo ou fosfatos de amônio) (KAMINSKI; PERUZZO, 1997). O uso crescente de fertilizantes fosfatados para corrigir o problema da baixa disponibilidade de P tem um forte impacto econômico e ambiental, uma vez que os processos químicos para a produção destes fertilizantes são de custo elevado em termos energéticos, além de utilizarem fontes não-renováveis e finitas de energia (OLIVEIRA et al., 2008). Assim, há necessidade encontrar outros usos para as rochas de menor qualidade.

A diferença na reatividade dos distintos fosfatos naturais está intimamente ligada ao regime geológico em que é formada a apatita e à quantidade de substituições isomórficas do fosfato por carbonato na rede cristalina (KAMINSKI; PERUZZO, 1997). Estas substituições ocorrem no momento da formação da rocha, criando um desequilíbrio na arquitetura do cristal que altera o seu produto de solubilidade. A diminuição dos cristais ocorre devido à incompatibilidade entre dois ânions na rede cristalina, o que limita o número de repetições da célula unitária na estrutura do cristal impedindo o seu crescimento (HOROWITZ; MEURER, 2004). Este é o fator que determina a reatividade de um fosfato de rocha, e está diretamente relacionado com a solubilidade em ácido cítrico a 2%. (KHASAWNEH; DOLL, 1978). As mínimas exigências da Legislação para que um fosfato seja classificado como reativo, é que este apresente 27% de P_2O_5 total e 30% do P_2O_5 total solúvel em ácido cítrico a 2% (BRASIL, 2007).

O fosfato solúvel superfosfato triplo (SFT) possui 45% de P_2O_5 total, 40,4% do P_2O_5 total solúvel em ácido cítrico a 2% (A.C). O termofosfato magnesiano possui 17% de P_2O_5 total e 14% de P_2O_5 total solúvel em A.C. O fosfato natural reativo de Gafsa, oriundo da Tunísia, possui 29,6% de P_2O_5 total, 10% de P_2O_5 total solúvel em A.C. O fosfato Itafós é brasileiro, e possui 23,2% de P_2O_5 total, 5,5% de P_2O_5 total solúvel em A.C. Esses valores são as garantias mínimas legais dessas duas fontes de P para a sua comercialização (RAIJ, 1991; ALCARDE; PROCHNOW, 2004).

A utilização de fosfatos de rocha é especialmente importante em solos altamente ácidos e geralmente inférteis (ALLOUSH; CLARK, 2001), cuja acidez é necessária para ocorrer a solubilização e aumentar sua eficiência no decorrer do tempo (GOEDERT; LOBATO, 1984). Em solos com pH abaixo de 6,0, a dissolução dos fosfatos naturais no solo continua a ocorrer, desde que a concentração de Ca e P sejam mantidas abaixo de $1,6 \times 10^{-3}$ e 2×10^{-6} mol dm^{-3} ,

respectivamente, na zona de dissolução (BOLAN et al., 1997). Em solução, o íon PO_4^{3-} é protonado em vários graus dependendo do pH do solo, e é também pareado com muitos íons como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+} (KHASAWNEH; DOLL, 1978). Considerando que a pH 4,1, o nível de equilíbrio da acidez é 100% para a extração de P de fosfatos de rocha, a pH 4,7 é somente 78% eficaz (BARNES, KAMPRATH, 1975). Em pH abaixo de certos níveis, a solubilidade aumenta pela elevação da substituição de CO_3^{2-} (KHASAWNEH; DOLL, 1978).

A depleção de cálcio na zona de dissolução melhora a dissolução dos fosfatos naturais (BOLAN et al., 1997). Segundo Corrêa et al. (2005), o alto teor de Ca trocável foi provavelmente a principal causa da menor solubilização do fosfato de Gafsa no Latossolo Vermelho e, conseqüentemente, menor eficiência desta fonte em relação ao SFT.

2.7 Eficiência Agronômica dos Fosfatos Naturais

A eficiência agronômica de fosfatos, também chamada de eficiência agronômica relativa (EAR), foi proposta por Barnes e Kamprath (1975) e empregada por diversos autores brasileiros (GOEDERT; LOBATO 1984, KAMINSKI; PERUZZO, 1997; KORNDÖRFER; LARA-CABEZAS; HOROWITZ, 1999, OLIVEIRA JUNIOR; PROCHNOW; KLEPKER, 2003; HOROWITZ; MEURER, 2003; 2004).

A eficiência agronômica relativa (EAR) de um fertilizante é a relação entre o rendimento da cultura e a quantidade de unidades do nutriente (KAMINSKI; PERUZZO, 1997). Para fertilizantes fosfatados, a estimativa da EAR é relacionada com a sua solubilidade em laboratório, que é determinada em função da quantidade de P extraída por uma solução durante um determinado tempo (HOROWITZ; MEURER, 2004).

O EAR de fosfatos é afetada por vários fatores, como a origem geológica, a granulometria e a solubilidade, pelas características físicas e químicas do solo (textura, mineralogia, capacidade de adsorção de ânions, pH, teores de Ca, Mg, P, etc.), pelas espécies cultivadas, pelo modo de incorporação ao solo e tempo de reação (GOEDERT; LOBATO 1984).

Os fosfatos com alta solubilidade em ácido cítrico, como o fosfato de Gafsa, especialmente quando aplicado a lanço, tem mostrado eficiência similar aos solúveis em água se computado o efeito residual a longo prazo (GOEDERT; LOBATO, 1984; KORNDÖRFER; LARA-CABEZAS; HOROWITZ, 1999; SOUZA; LOBATO, 2003; MOTOMIYA et al., 2004). Já os fosfatos naturais brasileiros (Araxá, Patos de Minas, Catalão, Itafós, entre outros), cuja dissolução no solo é muito lenta, sobretudo em condições de acidez corrigida para culturas anuais (pH em água ao redor de 6,0), têm eficiência agrônômica muito baixa, em relação aos fosfatos solúveis em água, nos primeiros anos depois da aplicação (SOUSA; LOBATO, 2003).

Resende et al. (2006), obtiveram como melhor resposta em produtividade de grãos de milho a aplicação do fosfato reativo (Arad) no sulco parcelada em três anos. Segundo Soares et al. (2000), a resposta da cultura do milho aos fosfatos é observada apenas na presença da adubação complementar. Com incorporação, observou o desempenho do fosfato natural de Gafsa farelado como igual ao do SFT. Sem incorporação, o resultado do fosfato natural é inferior ao P acidulado. O contato entre a rocha fosfática e o solo é fundamental para a reação dos fosfatos naturais. Portanto, a incorporação facilita a decomposição do cristal tornando-o disponível à solução do solo. No entanto, Oliveira Junior, Prochnow e Klepker (2008), concluíram que para o maior EAR dos fosfatos naturais reativos a aplicação deve ser a lanço com incorporação. Este trabalho corrobora com Motomiya et al. (2004), que só encontraram resultados significativos quando o Gafsa isolado ou misturado ao SFT foi aplicado a lanço. Por outro lado, de acordo com Oliveira Junior (2007), o fosfato reativo não foi semelhante ao SFT em produzir resposta, independentemente da forma de aplicação das duas fontes para a cultura da soja. Braga et al. (1990) observaram após quatro cultivos um EAR médio de 111% do fosfato de Gafsa em relação ao SFT, na cultura da soja.

Para as doses de 100 e 200 kg ha⁻¹ de P₂O₅, o fosfato de Gafsa atingiu uma EAR de 92 e 103%, respectivamente, atingindo uma média de 97% de equivalência das duas doses no primeiro cultivo (KORNDÖRFER; LARA-CABEZAS; HOROWITZ, 1999), podendo ser uma alternativa para diminuir os custos de produção na adubação (SOUZA; GATIBONI; KAMINSKI, 2008). Piaia et al. (2002), observaram o comportamento do fosfato reativo de Gafsa sob saturação por bases entre 50 e 65%; com V% 50, encontraram 103% de EAR em relação ao SFT,

enquanto que com saturação por bases a 65% o EAR foi menor devido a vários fatores, como o maior pH e maior quantidade de Ca no solo, interferindo negativamente na dissolução desse fosfato.

Em termos da EAR, calculada com base na massa seca de parte aérea e no P acumulado pelas plantas de soja, observou-se que a aplicação a lanço do SFT resultou, respectivamente, em 91% e em 108% de EAR, em relação à fonte padrão que consistiu na aplicação de SFT no sulco. A aplicação do fosfato de Arad, também a lanço, resultou em 53% e em 61%, enquanto que os valores obtidos com a aplicação localizada do fosfato reativo resultaram em somente 14% e de 17% (OLIVEIRA JUNIOR; PROCHNOW; KLEPER, 2008). Barnes e Kamprath (1975), utilizando fosfato de Florida e Carolina do Norte em relação ao SFT, obtiveram 13 e 90% de EAR, respectivamente, para massa seca de parte aérea em plantas de milho. Assim como Ernani e Barber (1991), que relataram 61% de EAR na massa de matéria seca na cultura do milho, do fosfato Carolina do Norte, em relação ao DAP. Ono et al. (2009) avaliaram o P total do Arad, e a fração do P solúvel em ácido cítrico do Arad, baseando ambos na massa seca de parte aérea do milho. Relataram EAR médio de 96,6 e 123,9%, respectivamente, em relação ao SFT. Chien et al. (1987), avaliando o fosfato Carolina do Norte em relação ao SFT em casa de vegetação, relataram que a EAR da mistura entre esses dois fosfatos foi maior em relação às aplicações isoladas. Estes autores sugeriram que houve um efeito sinérgico na combinação. Isto ocorre devido ao favorecimento da utilização da fração solúvel pelas plantas, que proporcionam menores perdas com o fertilizante. Há também a menor eficiência agrônômica da fração não-solúvel, quando se reduz o contato entre o solo e o fertilizante (KHASAWNEH; DOLL, 1978).

O SFT, como fonte solúvel de P, tende a ser mais eficiente em curto prazo, por disponibilizar o P rapidamente às plantas. Entretanto, se comparado com os fosfatos naturais em longo prazo, o SFT tem sua eficiência diminuída devido ao processo de fixação de P (MOTOMIYA et al., 2004). Os fosfatos naturais reativos por sua vez, disponibilizam o P de maneira lenta, formando as reações de adsorção de P conforme a decomposição de suas estruturas porosas moles (GOEDERT; LOBATO, 1980).

2.8 O Ambiente Rizosférico

Tradicionalmente, o termo “rizosfera” foi primeiro descrito por Lorenz Hiltner, que publicou sua observação como “a região do solo que recebe influência direta das raízes, estimulando a proliferação microbiana” (ROVIRA, 1991). A rizosfera é densamente colonizada por microrganismos, cuja biodiversidade é o resultado de diferentes exsudatos liberados pela raiz (MISKO; GERMIDA, 2002).

Além das influências químicas que recebe, a rizosfera é rica em exsudatos, secreções, mucilagens, mucigel e lisados celulares. Os exsudatos são diferenciados das secreções, pois não envolvem gasto energético quando liberados pela raiz. Já as secreções atravessam membranas celulares por meio de transporte ativo, com gasto de energia metabólica. As mucilagens podem ser excretadas por células da coifa das raízes, por células externas da epiderme e pêlos radiculares ou ainda ter origem microbiana. O mucigel é composto de material gelatinoso de origem vegetal e microbiana, em interação com colóides minerais e orgânicos (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

Os efeitos dos microrganismos da rizosfera no crescimento radicular, na morfologia radicular, desenvolvimento de pêlos radiculares, na absorção e translocação de nutrientes em plantas demonstram a importância da microflora rizosférica na nutrição de plantas, e a necessidade de uma pesquisa multidisciplinar (ROVIRA, 1991).

Os fatores mais importantes para as Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs) envolvem o potencial de sobrevivência e de colonização radicular. Isto é devido à atividade de células introduzidas necessárias para produzir substâncias benéficas, ou competir com organismos deletérios e patogênicos (CHABOT et al., 1996).

De fato, *Pseudomonas* spp. do grupo Fluorescente têm se destacado como potentes colonizadoras da rizosfera (LOPER; ISHIMARU, 1991; GHIGLIONE et al., 2000; QUEIROZ; AGUILAR-VILDOSO; MELO, 2006), sendo típico sua presença em muitas outras plantas (MISKO; GERMIDA, 2002). Esta característica é denominada como competência rizosférica (CATTELAN; HARTEL,

2000). A colonização da rizosfera deve-se a uma maior disponibilidade de nutrientes em relação ao solo não-rizosférico. Esta disponibilidade é resultado da translocação de fotossintatos da parte aérea das plantas, via floema, para as raízes, onde sustentam os processos biossintéticos, sendo uma parte liberada para o solo rizosférico (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000). Um aspecto importante da colonização é a capacidade de competir com microrganismos já presentes na rizosfera da planta em desenvolvimento.

Mecanismos diretos de promoção de crescimento vegetal por RPCPs pode ser demonstrada na ausência de patógenos de plantas, ou outros microrganismos na rizosfera, enquanto mecanismos indiretos envolvem a capacidade de RPCPs para reduzir os efeitos deletérios de patógenos de plantas na produtividade da cultura (NELSON, 2004).

A atividade dos microrganismos depende da quantidade e qualidade da matéria orgânica do solo e da disponibilidade de nutrientes (GNANKAMBARY et al., 2008). Medidas de consumo de O_2 e liberação de CO_2 , que indicam a atividade heterotrófica dos microrganismos, evidenciam a maior taxa de decomposição dos compostos orgânicos na rizosfera (FANKEM et al., 2008). A respiração na rizosfera de algumas culturas pode ser até quatro vezes mais intensa do que no solo adjacente. Esta maior atividade global resulta da maior disponibilidade de substrato prontamente assimilável, do maior potencial de inóculo e do menor tempo de geração, especialmente das bactérias, na rizosfera (SIQUEIRA, 1993).

O açúcar presente em exsudatos pode ser usado como fonte de C por bactérias (EHTESHAMI et al., 2007). Este carbono orgânico pode afetar a solubilidade da rizosfera e a absorção dos nutrientes minerais, quer diretamente (formação de quelantes) ou indiretamente (estímulos das atividades microbianas) (MARSCHNER et al., 1986). Em média, 30-60% do carbono líquido fotossintetizado é armazenado nas raízes e grande parte deste carbono está distribuída na rizosfera, como carbono orgânico (MARSCHNER, 1995a). Esta distribuição do carbono também pode ser denominada como rizodeposição. A estreita relação entre o aumento da atividade e a diminuição de glicose intracelular demonstra que a resposta da microbiota do solo à adição de P pode estar associada ao conteúdo do açúcar no solo.

A bactéria rizosférica provavelmente não consegue mudar o pH da rizosfera para uma condição ótima para si mesma, sendo que ânions carboxílicos

são mais importantes para o mecanismo da mobilização do fosfato (FANKEM et al., 2008). O pH da rizosfera pode diminuir o pH do solo em até duas unidades, dependendo das condições da planta e fatores do solo (MARSCHNER, 1995b). A excreção de H^+ pelas raízes das plantas na rizosfera é causada por uma maior absorção de cátions em relação à de ânions (BOLAN et al., 1997).

O pH do solo próximo às raízes pode diferir significativamente daquele que está mais distante. A diferença pode surgir através do metabolismo da raiz, sendo também pela maior atividade de microrganismos próximos à estas em comparação com as mais distantes (RÖMHELD, 1986).

Os fatores responsáveis por mudanças no pH da rizosfera envolvem o desequilíbrio de cátions-ânions na absorção de íons e diferenças correspondentes na excreção líquida de H^+ e HCO_3^- (ou OH^-) (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007), excreção de ácidos orgânicos, pela liberação de ácidos orgânicos da raiz e aumento da produção de CO_2 (MARSCHNER, 1995b).

2.9 O Gênero *Pseudomonas*

O gênero *Pseudomonas* foi descrito por Migula em 1894, antes da existência da taxonomia bacteriana, que começou quando o microscópio composto atingiu o poder de resolução necessário para a observação destes organismos (PALLERONI, 2003). *Pseudomonas* é um gênero vasto, atualmente composto por mais de 100 espécies que são fenotipicamente e genotipicamente bem definidas. Além disso, novas espécies estão continuamente sendo adicionadas ao gênero, enquanto outros foram reclassificados como *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Comamonas*, *Acidovorax*, *Hydrogenophaga*, etc. (BENNASAR et al., 2010).

A classificação mais importante do gênero *Pseudomonas* por critérios genotípicos foi sugerida por Palleroni et al. (1973), classificando-as em cinco subgrupos rRNA de acordo com as medições de RNA-DNA de relacionamento.

Este grupo de bactérias foi incluído como correspondente a bacilos gram-negativos aeróbios (PEIX; RAMÍREZ-BAHENA; VELÁZQUEZ, 2009), de tamanho médio de 1,5-5,0 x 0,5-1,0 μm (GOMES, 2008), pertencente ao gênero

stricto sensu Pseudomonas incluindo diversas espécies que possuem patogenicidade humano-animal (*P. aeruginosa*), fitopatogênica (*P. cichorii*, *P. marginalis*, *P. syringae*, *P. tolaasii*, *P. viridiflava*) ou não-patogênico (*P. aureofaciens*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. putida*) (LEMANCEAU et al., 2009). São estritamente aeróbias, oxidativas, catalase positivas, oxidase positivas, sendo a maioria móvel por apresentar um ou vários flagelos polares (PALLERONI, 2003; GOMES, 2008).

A descrição fenotípica foi distribuída em dois grupos de acordo com suas características fisiológicas: grupo I incluindo as espécies que não requerem fatores de crescimento e grupo II, para aquelas que requerem fatores de crescimento (PEIX; RAMÍREZ-BAHENA; VELÁZQUEZ, 2009).

As *Pseudomonas* exibem uma ampla série de atividades metabólicas, adaptáveis à rizosfera e capazes para utilizar uma ampla gama de compostos orgânicos de baixa massa molecular e alguns compostos mais complexos, como fontes de carbono (MISKO; GERMIDA, 2002). Este gênero compreende um taxon de organismos muito versáteis metabolicamente, capazes de utilizar uma grande variedade de compostos orgânicos simples ou complexos. Compostos como sideróforos, reguladores de crescimento e centenas de diferentes metabólitos secundários, incluindo antibióticos e HCN são produzidos por *Pseudomonas* spp. Fluorescentes (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000).

A habilidade de bactérias do gênero *Pseudomonas* em se adaptarem a diferentes espécies de plantas pode ser devido à diversidade nutricional que ele possui (MISKO; GERMIDA, 2002). Consequentemente, elas estão distribuídas pelos solos e pela água, sendo importantes como patógenos de plantas, animais e humanos, com algumas estirpes relacionadas à promoção de crescimento de plantas e biocontrole de fitopatógenos (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000).

A maioria das estirpes de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCPs) documentadas até então pertence aos gêneros *Pseudomonas* (gram-negativas) e *Bacillus* (gram-positivas). Sendo que, dentre o gênero das *Pseudomonas*, o maior número das espécies refere-se ao grupo das Fluorescentes (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000), as quais são responsáveis por uma proporção significativa da população rizosférica, sendo talvez o mais conhecido das rizobactérias (MISKO; GERMIDA, 2002).

Pseudomonas spp. fluorescentes também estão envolvidas na conservação do ambiente. Seus metabolismos de carbono e energia são responsáveis pela dissimilação de nitrato e degradação de compostos xenobióticos (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000).

Segundo Bannasir et al. (2010), as informações contidas sobre o gênero *Pseudomonas* estão amplamente dispersas em bancos de dados existentes. O banco de dados para as estirpes de *Pseudomonas*, denominado PseudoMLSA, é livremente acessível por meio de um servidor web para as pesquisas e informações relacionadas com a sequência multigênica.

2.10 Inoculação com RPCPs

A produção de inoculantes de baixo custo com RPCPs é uma alternativa para diminuir os riscos ambientais causados pela utilização inadequada de insumos e agrotóxicos, aumentar a produção agrícola, tornando o produto mais competitivo e diferenciado e, conseqüentemente, melhorando o custo/benefício da cultura (COELHO et al., 2007).

As bactérias rizosféricas desempenham papel importante na ciclagem de nutrientes, podendo agir como RPCPs, e como agentes de controle biológico (MISKO; GERMIDA, 2002). Os efeitos benéficos exercidos pelas RPCPs são realizados por meio do estímulo ao crescimento da planta ou pela proteção microbiológica (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000).

O solo representa um excelente “habitat” para a sobrevivência, em forma dormente (inativa) como saprófita ou em hospedeiros alternativos, de patógenos do sistema radicular das plantas (SIQUEIRA, 1993). Bactérias do gênero *Bacillus* possuem maior tempo de prateleira em relação à *Pseudomonas*. Isto é devido a uma estrutura de resistência desenvolvida em condições adversas, chamada endósporo, que permite a bactéria resistir a essas condições representando um maior prazo de vida útil das bactérias (MOREIRA; SIQUEIRA 2006).

As RPCPs podem fazer parte da população residente das plantas como epifíticas ou endofíticas e não são fitopatogênicas. Bactérias endofíticas são aquelas que podem ser isoladas de tecidos vegetais desinfestados ou extraídas do interior da planta e não causam prejuízo visível à mesma (MARIANO et al., 2004). Microrganismos endofíticos representam uma importante fonte para o desenvolvimento de inoculantes, pois podem interagir de diferentes maneiras com a planta hospedeira (ASSUMPÇÃO et al., 2009).

Dentre os fatores abióticos responsáveis pelo declínio das populações bacterianas introduzidas nos solos, destacam-se principalmente: textura, tipo de argila, pH e a disponibilidade de substratos orgânicos. O solo é um ambiente extremamente complexo e também apresenta um poder tamponável em relação aos fatores bióticos, minimizando os efeitos da introdução de novos organismos (resiliência) (MENDES; REIS JUNIOR, 2003).

As plantas inoculadas com *Pseudomonas* e outros representantes da rizosfera apresentam maiores quantidades de aminoácidos livres no xilema, maior atividade enzimática nas raízes e mais clorofila nas folhas (SIQUEIRA, 1993).

A aparente falta de especificidade entre os microrganismos solubilizadores de fosfato pode ser minimizado pelo uso de inoculantes com um número bastante elevado de células ativas e do uso de microrganismos capazes prontamente se estabelecerem na rizosfera das plantas (MENDES; REIS JUNIOR, 2003).

2.11 Promoção do Crescimento por Rizobactérias

As RPCPs são bactérias que vivem na rizosfera e que promovem crescimento das plantas associadas numa relação não simbiótica (SOTTERO, 2003). Essas rizobactérias constituem um grupo muito amplo de microrganismos, uma vez que sob essa designação incluem-se quaisquer bactérias que vivam na rizosfera e afetem benéficamente o crescimento de uma ou mais espécies vegetais (FREITAS, 2007). A associação da bactéria endofítica com a planta consiste numa

interação íntima, na qual a planta fornece os nutrientes e habitat, enquanto a bactéria irá promover o crescimento e sanidade da planta (MARIANO et al., 2004).

A promoção direta de crescimento ocorre quando uma rizobactéria produz metabólitos que promovem diretamente o crescimento das plantas sem a interação com a microflora nativa do solo (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000).

Dentre as espécies de *Pseudomonas*, além da *P. fluorescens* há várias outras espécies que também podem ser promotoras de crescimento (CIPRIANO, 2009). Os gêneros bacterianos que são classificados como promotores de crescimento são membros dos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azoarcus*, *Arthrobacter*, entre outros (SPAEPEN; VANDERLEYDEN; OKON, 2009).

Em geral, acredita-se que RPCPs são mais eficazes na promoção do crescimento das plantas sob suprimento limitado de nutrientes (EHTESHAMI et al., 2007). A promoção de crescimento é considerada indireta quando a planta está sendo infectada por um patógeno e as RPCPs atuam como agentes de controle biológico pela produção de HCN, bacteriocinas e antibióticos, competição por espaço, Fe^{+3} e outros nutrientes, parasitismo, indução de resistência e proteção cruzada (MARIANO et al., 2004).

Muitas bactérias rizosféricas aumentam o comprimento das raízes e o número dos pêlos radiculares, além de afetarem o desenvolvimento da parte aérea no número de folhas, a área foliar e o rendimento de culturas (HARTHMANN et al., 2010). Esse efeito é atribuído à produção microbiana de hormônios vegetais ou reguladores do crescimento vegetal (CATTELAN; HARTEL, 2000).

Entre as bactérias, muita atenção tem sido dedicada à captação de ferro mediado por sideróforos de *P. fluorescens* (LEMANCEAU et al., 2009). Aliás, esse é um dos motivos pelos quais bactérias do grupo Fluorescente do gênero *Pseudomonas* são tão pesquisadas como promotoras do crescimento: justamente o que lhes confere fluorescência é um sideróforo, denominado genericamente como pseudobactina ou pioverdina, produzido em condições de deficiência de ferro (CATTELAN; HARTEL, 2000).

Os sideróforos são compostos de baixo peso molecular (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000), moléculas microbianas transportadoras capazes de quelar o Fe^{3+} com alta afinidade, sendo que a rizobactéria que produz sideróforos

pode competir com outro microrganismo produzindo Fe menos disponível (LEMANCEAU et al., 2009) sob condições limitantes desse elemento (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000). O complexo Fe-sideróforo pode ser específico para o organismo que o produziu. Desta forma, pode ser restringido o crescimento de fungos e bactérias, havendo controle das populações microbianas pelo organismo produtor. De fato, quase todas as bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas produzem sideróforos, diferindo, contudo, na eficiência de produção (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000). Entre as populações microbianas, a incorporação de sideróforos por microrganismos heterólogos pode dar-lhes uma vantagem competitiva sobre aqueles que não apresentam esta capacidade (LEMANCEAU et al., 2009).

É um grande desafio para os microrganismos e para as plantas ao adquirir Fe^{3+} , essencial para o seu metabolismo e crescimento. Para enfrentar este desafio, plantas e microrganismos desenvolveram estratégias ativas de captação que se baseiam em uma série de processos químicos. Basicamente, estas estratégias dependem: da acidificação da solução do solo mediados com base na excreção de prótons e ácidos orgânicos, da quelatação de Fe^{3+} por ligantes incluindo sideróforos com elevada afinidade para Fe^{3+} , e da redução do Fe^{3+} a Fe^{2+} por redutases e compostos de redução (LEMANCEAU et al., 2009).

A promoção do crescimento de plantas pode ser proporcionada por rizobactérias antagonistas a microrganismos fitopagênicos e outros deletérios, que reduzem o crescimento das plantas. As características mais comuns a este tipo de antagonismo envolvem a produção de sideróforos e antibióticos (CATTELAN; HARTEL, 2000).

Ainda que se tenha observado instabilidade, dos 10 isolados de *Pseudomonas* utilizados, sete propiciaram algum benefício às plantas, sobre a matéria seca das raízes ou da parte aérea de três portas-enxerto de citrus (FREITAS; VILDOSO, 2004).

Segundo Ehteshami et al. (2007), houve aumento na produção de grãos de milho com a inoculação de micorriza + *P. fluorescens*, em condições de déficit hídrico. A inoculação individual de *P. fluorescens* não afetou a produção de grãos e componentes de produção.

Fankem et al. (2008), em solo ácido e escasso de P, obtiveram maiores valores para altura de plantas de milho em duas das três estirpes de *P.*

fluorescens utilizadas, sendo significativamente maiores em massa de matéria seca. Oliveira (2010), obteve aumentos no número de grãos por fileira, diâmetro e massa da espiga, e nos teores de P e K nos grãos, em função de *P. fluorescens*.

Cattelan et al. (2005), encontraram as maiores alturas em plantas de girassol com o isolado P21 do grupo Fluorescente, porém, não havendo diferença significativa em relação à testemunha. Quanto às raízes, a maioria dos tratamentos com bactérias proporcionaram massa de raízes superiores à testemunha, entretanto, não sendo diferentes entre si.

O isolado GN 2214 (*P. pickettii*) aumentou significativamente a massa seca de raiz de plântulas de soja, entretanto obteve baixo valor para massa e número de nódulos. Dos sete isolados que aumentaram algum aspecto das plântulas de soja, três foram estritamente associados à *Pseudomonas* spp. Estes isolados foram identificados como *P. cepacia* (GN 1201), *P. pickettii* (GN 2214) e *P. chlororaphis* (GN 2212), sendo que o restante foi desconhecido (CATTELAN; HARTEL; FUHRMANN, 1999).

Estas situações comprovam que rizobactérias do gênero *Pseudomonas* possuem habilidade de produzir incrementos fitotécnicos afetando positivamente a produção de biomassa e de grãos em diversas culturas.

2.12 Solubilização de Fosfatos Minerais

Os microrganismos podem solubilizar e mineralizar P de fontes inorgânicas e orgânicas, respectivamente, e podem ser usados como inoculantes visando um aumento da disponibilidade de P para as plantas (RICHARDSON, 2001).

Os microrganismos solubilizadores de nutrientes inorgânicos também são favorecidos na rizosfera, principalmente pela elevação na disponibilidade de substrato, que é limitante para os solubilizadores heterotróficos. Em torno da metade a um décimo dos isolados rizosféricos de bactérias são capazes de solubilizar o fosfato de cálcio, pela excreção de H^+ e da produção de ácidos orgânicos e inorgânicos (SIQUEIRA, 1993; ARCAND; SCHNEIDER, 2006; FANKEM et al., 2008).

Os principais mecanismos na solubilização de fosfatos estão associados à produção de ácidos carbônicos vindos de CO_2 e outros ácidos orgânicos, reduzindo compostos de Fe^{3+} para Fe^{2+} , e produzindo H_2S sob baixos níveis de O_2 (CATTELAN; HARTEL, 2000). A maioria dos ácidos orgânicos são hidroxiácidos, como láticos, glicólicos, cítricos e succínicos, que podem formar quelantes com Ca^{2+} e Fe^{3+} (MARSCHNER, 1995a).

A solubilização de fosfato em meio sólido pode ser avaliada pela formação de um halo transparente ao redor da colônia, em contraste com o meio opaco (KANG et al., 2002), ou pela solubilização de fosfato em meio líquido adicionado de fontes insolúveis desse elemento (SOUCHIE et al., 2005).

A população de microrganismos solubilizadores de fosfato e sua capacidade de solubilização estão intimamente relacionadas ao tipo e ao manejo do solo (NAHAS; CENTURION; ASSIS, 1994). Os microrganismos solubilizadores de fosfatos desempenham importante papel na disponibilização de formas inorgânicas de fosfatos (Ca-P, Al-P e Fe-P), considerando o aumento do teor de P na solução, que propicia melhor crescimento e maior rendimento das culturas (CHABOT; ANTOUN; CESCAS, 1996).

Fankem et al. (2008), avaliando a eficiência de fosfatos em diferentes condições de pH, comprovam que a acidificação não pode ser a explicação pela mobilização do fosfato em culturas de rizobactérias. Entretanto, a eficiência de ácidos carboxílicos na solubilização do P dependem do pH. In vitro, a mobilização do fosfato em cultura líquida foi causada pela acidificação do pH e da produção de diferentes ânions carboxílicos (FANKEM et al., 2006).

Em situações onde os solos são suficientes em P total, mas o P é predominantemente presente em poucos complexos solúveis, a adição de ácidos orgânicos no solo pode aumentar a disponibilidade de fosfato. É provável que por meio da ação de quelação e reações de troca de ligantes que os ácidos orgânicos são capazes de aumentar a disponibilidade de solo instável e solúvel em baixo P (ARCAND; SCHNEIDER, 2006).

Utilizando-se diferentes sistemas de culturas e diferentes profundidades, Cattelan e Vidor (1990) não observaram efeito significativo para os solubilizadores de fosfato. Assim como, não obtiveram correlação entre esse grupo de microrganismos e o teor de P disponível no solo. Microrganismos que possuem

eficiente poder solubilizador de fosfato de rocha em condições controladas podem não ser capazes de fazê-lo no campo (RICHARDSON, 2001).

Segundo Siqueira (1993), microorganismos com atividades específicas ocorrem como produtores de fosfatases como a *P. fluorescens*, que hidrolizam polifosfatos orgânicos, tornando o P disponível na solução do solo. Comumente relatados, dentre os ácidos orgânicos produzidos por microrganismos se incluem os ácidos glucônico, cítrico e oxálico (RICHARDSON, 2001).

Cattelan, Hartel e Fuhrmann (1999), isolando 116 bactérias de um solo rizosférico de plantas de soja, encontraram em cinco bactérias um efeito positivo na solubilização de fosfato.

Oliveira et al. (2008), obtiveram produção de fosfatase e mineralização de fitato com inoculação de *Burkholderia* sp. em sementes de milho. Entre as bactérias, os isolados identificados como *Bacillus* sp. (B17) e *Burkholderia* sp. (B5) foram os mais eficientes solubilizadores de P-Ca, solubilizando 67% a 58,5% do P total, respectivamente.

Vários autores detectaram a solubilização do fosfato inorgânico em uma forma solúvel por rizobactérias do gênero *Pseudomonas* (CATTELAN; HARTEL; FUHRMANN, 1999; SILVA-FILHO; VIDOR, 2001; SOTTERO, 2003; FREITAS, 2007; FANKEM et al. 2008; OLIVEIRA et al., 2008). Freitas (2007) salienta a importância do estudo continuado das RPCPs visando à interação com a microbiota nativa.

REFERÊNCIAS

- ALCARDE, J. C.; PROCHNOW, L. I. Metodologias de extração química para avaliação da eficiência de fertilizantes fosfatados. In: SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA. Piracicaba, 2004. **Anais**. Piracicaba, Potafos/Anda, 2004. p.589-604.
- 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.
- ALMEIDA, J. A.; TORRENT, J.; BARRÓN, V. Cor de solo, formas do P e adsorção de fosfatos em latossolos desenvolvidos de basalto do extremo-sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.985-2002, 2003.
- ARCAND, M. M.; SCHNEIDER, K. D. Plant- and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.78, p.791-807, 2006.
- ASSUMPÇÃO, L. C. et al. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.5, p.503-510, 2009.
- BARNES, J. S.; KAMPRATH, E. J. **Availability of North Carolina rock phosphate applied to soil**. Agricultural Station. North Carolina. 1975. 23p. (Technical Bulletin, 229)
- BEN-GAL, A.; DUDLEY, L. M. Phosphorus availability under continuous point source irrigation. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.67, p.1449–1456, 2003.
- BENNASAR, A. et al. PseudoMLSA: a database for multigenic sequence analysis of *Pseudomonas* species. **BMC Microbiology**, London, v.10, n.118, p.1-6, 2010. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/118>> Acesso em 15 mai. 2010.
- 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.

BÜLL, L. T. Nutrição Mineral do Milho. In: BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: Potafós, 1993. p.63-146.

CARDOSO, E. J. B. N.; NOGUEIRA, M. A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: SILVEIRA, A. P.; FREITAS, S. S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. p.79-96

CATTELAN, A. J. et al. Regulação do desenvolvimento vegetativo de girassol pela inoculação com bactérias rizosféricas. **Anais**. XVI Reunião Nacional de Pesquisa de Girassol IV Simpósio Nacional sobre a Cultura do Girassol, Londrina, PR - Embrapa Soja, 2005. 167p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781; n.261)

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.

CATTELAN, A. J.; HARTEL, P. G.; FUHRMANN. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.63, p.1670-1680, 1999.

CATTELAN, A. J.; VIDOR, C. Sistemas de culturas e a população microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.14, p.125-132, 1990.

CHABOT, R. et al. Root Colonization of maize and lettuce by *Bioluminescent rhizobium leguminosarum* biovar *Phaseoli*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v.62, n.8, p.2767-2772, 1996.

CHABOT, R.; ANTOUN, H.; CESCAS, M. P. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.184, p.311-321, 1996.

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.

CIPRIANO, M. A. P. **Potencial de *Pseudomonas* spp na promoção de crescimento e no controle de *Pythium* em alface cultivada em sistema hidropônico**. 2009. 57f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2009.

COELHO, L. F. et al. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, p.1413-1420, 2007.

COELHO, A. M.; ALVES, V. M. C. Adubação Fosfatada na Cultura do Milho. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. **Anais do Simpósio sobre Fósforo na Agricultura Brasileira**. POTAFOS, Piracicaba, 2004, p.243-284.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de. Nutrição e adubação. In: POTAFOS. **Seja doutor do seu milho**. 2 ed. Piracicaba, 1995. p.1-9. (Arquivo do Agrônomo, 2).

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira – grãos safra 2010/2011 quarto levantamento janeiro/2011**.

CORRÊA, R. M. et al. B. Gafsa rock phosphate and triple superphosphate for dry matter production and P uptake by corn. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.62, n.2, p.159-164, 2005.

EHTESHAMI, S. M. R. et al. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on quantitative and qualitative characteristics of maize (*Zea mays* L.) under water deficient stress. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Lasani Town Faisalabad, v.10, p.3585-3591, 2007.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/index.htm>. Acesso em 05 set. 2010.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Jornal Eletrônico da Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas-MG). Ano 03, n.19, nov. 2009. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/grao/19_edicao/grao_em_grao_materia_04.htm>. Acesso em 05 set. 2010.

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.

ERNANI, P. R.; STECKLING, C.; BAYER, C. Características químicas de solo e rendimento de massa seca de milho em função do método de aplicação de fosfatos, em dois níveis de acidez. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.939-946, 2001.

FANKEM, H. et al. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated acidic soils of Cameroon. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v.2, p.171-178, 2008.

FANKEM, H. et al. Occurrence and functioning of phosphate solubilizing microorganisms from oil palm tree (*Elaeis guineensis*) rhizosphere in Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v.5, p.2450-2460, 2006.

FERNANDES, C.; MURAOKA, T. Absorção de P por híbridos de milho cultivados em solo de cerrado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.4, p.781-787, 2002.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal : Funep, 2007. 576p.

FREITAS, S. S. Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas. In: SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. S. (Org.). **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. 1 ed. Campinas: Instituto Agrônômico, 2007, v. 1, p. 1-20.

FREITAS, S. S.; VILDOSO, C. I. A. Rizobactérias e promoção do crescimento de plantas cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, n.6, 2004.

GARCIA, J. C.; DUARTE, J. O. **Volta da inflação dos alimentos?** Ano 4, Edição nº 38, jan. 2011. Sete Lagoas, MG (Informe CIMilho - Boletim Informativo do Centro de Inteligência do Milho)

GARCIA, J. C.; DUARTE, J. O. **Perspectivas futuras**. Ano 3, Edição nº 27, fev. 2010. Sete Lagoas, MG (Informe CIMilho - Boletim Informativo do Centro de Inteligência do Milho)

GATIBONI, L. C. et al. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases ácidas durante a diminuição do P disponível no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.8, p.1085-1091, 2008.

GATIBONI, L. C. et al. Biodisponibilidade de formas de fósforo acumuladas em solo sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, p.691-699, 2007.

GHIGLIONE, J. F. et al. Role of respiratory nitrate reductase in ability of *Pseudomonas fluorescens* YT101 to colonize the rhizosphere of maize. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, p.4012-401, 2000.

GOEDERT, W. J.; LOBATO, E. Avaliação agrônômica de fosfatos em solos de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.18, p.119-24, 1984.

GOEDERT, W. J.; LOBATO, E. Eficiência agronômica de fosfatos em solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.15, n.3, p.311-318, 1980.

GOMES, M. J. P. Gênero *Pseudomonas* spp. **Microbiologia Clínica**. LABACVET – Bacteriologia, 2008.

GNANKAMBARY, Z. et al. Nitrogen and phosphorus limitation of soil microbial respiration in two tropical agroforestry parklands in the south-Sudanese zone of Burkina Faso: the effects of tree canopy and fertilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.40, p.350–359, 2008.

GRANT, C. A. et al. The importance of early season phosphorus nutrition. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.81, p.211-224, 2001.

HARTHMANN, 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.

HAVLIN, J. L. et al. **Soil fertility and fertilizers**: an introduction to nutrient management, 7 ed. p.160-197, 2005.

HOFFMANN, R. Segurança alimentar e produção de etanol no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v.13, n.2, p.01-05, 2006.

HOROWITZ; N. M.; MEURER, E. J. Eficiência agronômica de fosfatos naturais. In: SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA. Piracicaba, 2004. **Anais**. Piracicaba, Potafos/Anda, p.665-682. 2004.

HOROWITZ, N.; MEURER, E. J. Eficiência de dois fosfatos naturais farelados em função do tamanho da partícula. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.1, p.41-47, 2003.

KAMINSKI, J.; PERUZZO, G. **Eficácia de fosfatos naturais reativos em sistemas de cultivo**. Santa Maria, Núcleo Regional Sul da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. 31p. (Boletim Técnico No.3)

KANG, S. et al. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil-inhabiting fungus *Fomitopsis* sp. PS 102. **Current Science**, Bangarole, v.82, n.4, p.439-442, 2002.

KHASAWNEH, F. E.; DOLL, E. C. The use of phosphate rock for direct application to soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.30, p.159-207, 1978.

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.

KORNDÖRFER, G. H.; LARA-CABEZAS, W. A.; HOROWITZ, N. Eficiência agronômica de fosfatos naturais reativos na cultura do milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.2, 1999.

LEMANCEAU, P. et al. Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.321, n.1-2, p.513-535, 2009.

LINDSAY, W. L. **Chemical equilibria in soil**. New York: Wiley Interscience, 1977. 450p.

LOPER, J. E.; ISHIMARU, C. A. Factors influencing siderophore-mediated biocontrol activity of rhizosphere *Pseudomonas* spp. **Kluwer Academic Publishers**, p.253-261, 1991.

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.

MARIANO, R. L. R. et al. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v.1, p.89-111, 2004.

MARSCHNER, H. The soil-root interface (rhizosphere) in relation to mineral nutrition. In: MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**, 2. University of Hohenheim. Germany. Academic Press, 1995a, p.537-594.

MARSCHNER, H. Rhizosphere pH effects on phosphorus nutrition. In: **Genetic manipulation of crop plants to enhance integrated nutrient management in cropping systems**, 1. Phosphorus: proceedings of an FAO/ICRISAT Expert Consultancy Workshop, ICRISAT Asia Center, India. 15-18. 1995b, p.107-115.

MARSCHNER, H. et al. Root-induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants. **Z. Pflanzenernachr. Bodenkd**, v.149, p.441-456, 1986.

MARTINAZZO, R. et al. Fósforo microbiano do solo sob sistema plantio direto em resposta à adição de fosfato solúvel. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, p.563-570, 2007.

MENDES, I. C. REIS JUNIOR, F. B. **Microorganismos e disponibilidade de fósforo (P) nos solos: uma análise crítica**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 26p. (Documentos/Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111;85)

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.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Editora UFLA, 2006, 729p.

MOTOMIYA, W. R.. et al. Métodos de aplicação de fosfato na soja em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.4, p.307-312, 2004.

NAHAS, E.; CENTURIUON, J. F.; ASSIS, L. C. Microorganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Viçosa, n.18, p.43-48, 1994.

NELSON, L. M. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. **Crop Management**, Saint Paul, 2004. Disponível em: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/rhizobacteria/>. Acesso em 15 ago. 2010.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F. N. P. In: NOVAIS, R. F. et al. (eds). **Fertilidade do solo**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.471-550.

OLIVEIRA, M. A. **Adubação mineral e inoculação a base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho**. 2010. 89f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

OLIVEIRA, C. A. et al. **Microorganismos solubilizadores de fosfato isolados da rizosfera de genótipos de milho em plantio direto e convencional**. Sete Lagoas, MG, 2008. ISSN 1679-0154, 2p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Nº 04)

OLIVEIRA JUNIOR, A. de; PROCHNOW, L. I.; KLEPKER, D. Eficiência agrônômica de fosfato natural reativo na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.5, p.623-631, 2008.

OLIVEIRA JUNIOR, A. de. **Eficiência agrônômica de fosfatos de rocha, utilizados isoladamente ou associados ao superfosfato triplo, para a cultura da**

soja. 2007. 124f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.

ONO, F. B. Eficiência agronômica de superfosfato triplo e fosfato natural de arad em cultivos sucessivos de soja e milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.3, p.727-734, 2009.

QUEIROZ, B. P. V.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; MELO, I. S. Visualização *in vitro* da colonização de raízes por rizobactérias. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.32, n.1, p.95-97, 2006.

PALLERONI, N. J. Prokaryote taxonomy of the 20th century and the impact of studies on the genus *Pseudomonas*: a personal view. **Microbiology**, v.149, p.1-7, 2003.

PALLERONI, N. J. et al. Nucleic acid homologies in the genus *Pseudomonas*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.23, p.333-339, 1973.

PARANÁ. SECRETARIA DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO – DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL. Disponível em: <http://www.seab.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=4673>> Acesso em 05 fev. 2011.

PATERNIANI, E. Métodos Tradicionais de Melhoramento do Milho. In: BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: Potafós, 1993. p.23-44.

PEIX, A.; RAMÍREZ-BAHENA, M. H.; VELÁZQUEZ, E. Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. **Infection, Genetics and Evolution**. v.9, n.6, p.1132-1147, 2009.

PIAIA, F. L. et al. Eficiência da adubação fosfatada com diferentes fontes e saturações por bases na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.3, p.488-499, 2002.

PINAZZA, L. A. Perspectivas da Cultura do Milho e do Sorgo no Brasil. In: BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: Potafós, 1993. p.1-10.

PLÉNET, D.; MOLLIER, A.; PELLERIN, S. Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency. II. Radiation-use efficiency, biomass accumulation and yield components. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.224, n.2, p.258-272, 2000.

PRADO, R. M.; FERNANDES, F. M.; ROQUE, C. G. Resposta da cultura do milho a modos de aplicação e doses de P. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.83-90, 2001.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação**. São Paulo; Piracicaba: Ceres, Potafos, 1991. 343p.

RHEINHEIMER, D. S.; ANGHINONI, I. Distribuição do fósforo inorgânico em sistemas de manejo de solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.1, p. 151-160, 2001.

RESENDE, A. V. et al. Fontes e modos de aplicação de fósforo para o milho em solo cultivado da região do cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, n.30, p.453-466, 2006.

RIBEIRO, E. L. A. et al. Silagens de girassol (*Helianthus annuus* L.), milho (*Zea mays* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) moench) para ovelhas em confinamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.2, 2002.

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.

RIVÉRA-HERNÁNDEZ, B. et al. Morphological quality of sweet corn (*Zea mays* L.) ears as response to soil moisture tension and phosphate fertilization in Campeche, Mexico. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v.97, n.9, p.1365-1374, 2010.

RODRIGUEZ, H; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v.17, n.4-5, p.319-339, 1999.

RÖMHELD, V. **pH changes in the rhizosphere of various crop plants, in relation to the supply of plant nutrients**: Potash Review. International Potash Institute, Berne, Switzerland, 1986. (Communication No. 12)

ROVIRA, A. D. Rhizosphere research – 85 years of progress and frustration. In: KEISTER, D. L.; CREGAN, P. B. **The rhizosphere and plant growth**. BELTSVILLE SYMPOSIA IN AGRICULTURAL RESEARCH, 14., 1989, Beltsville. Dordrecht: Kluwer, 1991. p.3-14. (Beltsville Symposia in Agricultural Research, 14)

SANTOS, D. R.; GATIBONI, L. C.; KAMINSKI, J.; Fatores que afetam a disponibilidade do fósforo e o manejo da adubação fosfatada em solos sob sistema plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.576-586, 2008.

SARKER, B. C.; KARMOKER, J. L.; RASHID, P. Effects of phosphorus deficiency on anatomical structures in maize (*Zea mays* L.). **Bangladesh Journal of Botany**, Dhaka, v.39, n.1, p.57-60, 2010.

SARTORI, J. R. et al. Silagem de grãos úmidos de milho na alimentação de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.7, p.1009-1015, 2002.

SCHENK, M. K.; BARBER, S. A. Root characteristics of corn genotypes as related to P uptake. **Agronomy Journal**, Madison, v.71, p.921-924, 1979.

SILVA FILHO, G. N.; VIDOR, C. Atividade de microrganismos solubilizadores de fosfato na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.12, p.1495-1508, 2001.

SIQUEIRA, J. O. **Biologia do solo**. ESAL/FAEPE, Lavras, 1993. p.93-114.

SOARES, W. V. et al. Avaliação do fosfato natural de Gafsa para recuperação de pastagem degradada em Latossolo Vermelho-escuro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.4, p.819-825, 2000.

SOTTERO, A. N. **Colonização radicular e promoção de crescimento vegetal por rizobactérias**. 2003. 62f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2003.

SOUCHIE, E. L. et al. Solubilização de fosfatos em meios sólido e líquido por bactérias e fungos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.11, p.1149-1152, 2005.

SOUZA, E. C. A. et al. Respostas do milho à adubação com fósforo e zinco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, p.1031-1036, 1998.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Adubação fosfatada em solos da região do cerrado**. Potafós - Piracicaba-SP, n.102, 2003, 16p. (Encarte Técnico – Informações Agronômicas)

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN J.; OKON, Y. Plant Growth-Promoting Actions of Rhizobacteria. **Advances in Botanical Research**, v.51, P.284-320, 2009.

VALE, F. R. et al. **Fertilidade do solo: dinâmica e disponibilidade de nutrientes**. Lavras: Esal/Faepe, 1993. p.87-104.

ZAGO, V.C.P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N.G. ***Pseudomonas spp.* Fluorescentes** – Bactérias promotoras de crescimento de plantas e

biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 32p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 127).

3 ARTIGO A – FONTES DE FÓSFORO ASSOCIADAS À INOCULAÇÃO COM *Pseudomonas fluorescens* NO DESENVOLVIMENTO E PRODUTIVIDADE DO MILHO

RESUMO

A utilização crescente de fertilizantes para elevar a disponibilidade de P para as plantas tem promovido um forte impacto econômico no setor agrícola. Visando a melhor eficiência do uso dos fertilizantes fosfatados, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de fontes de P associados à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* via sementes, no desenvolvimento e nos componentes de produção de plantas de milho. O experimento foi conduzido a campo, em esquema fatorial 6x2, em blocos casualizados, com quatro repetições. Foram aplicados 120 kg ha⁻¹ de P via solo por meio de cinco fontes: Superfosfato Triplo (SFT), Gafsa, Itafós, SFT+Gafsa e SFT+Itafós, além do controle (sem P). As sementes da cultivar AG 8088 foram submetidas a dois níveis de inoculação (com e sem) com *Pseudomonas fluorescens* da Estirpe 1008. As variáveis analisadas no florescimento foram: altura de plantas (AP), altura da inserção da espiga (AIE), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF), massa seca de folhas (MSF), massa seca total (MST) e teor de P foliar (PF). Na colheita, realizou-se a avaliação dos componentes de produção: número de grãos por espiga (NG), massa de 100 grãos (M100), teor de P nos grãos (PG), produtividade de grãos (PROD), índice de colheita (IC) e eficiência agrônômica relativa (EAR). A inoculação com *P. fluorescens* via semente incrementou a AIE e AP quando utilizado SFT. A inoculação de *P. fluorescens* no controle resultou em 87% de EAR. As aplicações de SFT+Itafós e SFT+Gafsa podem ser uma alternativa para os sistemas agrícolas, visando a menor utilização de fosfatos acidulados. O desempenho produtivo do milho não foi alterado pelas fontes de P e níveis de inoculação com *P. fluorescens*.

Palavras-chave: *Zea mays* L., rizobactérias, biomassa, promotores de crescimento, componentes de produção.

ABSTRACT

The increased use of fertilizers to raise phosphorus availability to plants has promoted a strong economic impact on agriculture. For the better efficiency of use of phosphate fertilizers, this study aimed to evaluate the effect of P sources linked to inoculation with *Pseudomonas fluorescens* via seeds, in the development and yield components of corn plants. The experiment was conducted in the field, in 6x2 factorial, in randomized block design with four replications. Were applied 120 kg ha⁻¹ P in the soil through five sources: triple superphosphate (SFT), Gafsa rock phosphate, Itafos rock phosphate, SFT+Gafsa and SFT+Itafos, and a control treatment (no P). The seeds of the cultivar AG 8088 were subjected to two levels of inoculation (with or without) with the *Pseudomonas fluorescens* strain 1008. The variables studied in the flowering were: plant height (AP), height of ear insertion (AIE), stem diameter (DC), leaf area (AF), leaf dry mass (MSF), total dry weight (MST) and leaf P content (PF). At harvest, there was the assessment of yield components: number of kernels per ear (NG), weight of 100 grains (M100), P content in grain (PG), yield (PROD), harvest index (IC) and relative agronomic effectiveness (EAR). The inoculation with *P. fluorescens* to seeds increased the AIE and AP when used SFT. Inoculation of *P. fluorescens* to control resulted in 87% of EAR. The applications of SFT and SFT+Itafos and SFT+Gafsa can be an alternative to farming systems, aiming to lower use of acidulated phosphate. The yield performance of corn was not altered by the P sources and levels of inoculation with *P. fluorescens*.

Keywords: *Zea mays* L., rhizobacteria, biomass, growth promoters, yield components.

3.1 INTRODUÇÃO

O P é um elemento requerido durante todo o ciclo da cultura do milho, fundamental para o crescimento e desenvolvimento vegetal (SOUSA; LOBATO, 2003). Os teores deste macronutriente na solução do solo são, em geral, baixos, em decorrência da baixa solubilidade dos compostos de P existente no solo,

e da alta capacidade de fixação do elemento pelas partículas presentes no meio em solos tropicais (FORNASIERI FILHO, 2007). A deficiência de P prejudica a formação do colmo em plantas de milho, resultando em diâmetros menores (SARKER; KARMOKER; RASHID, 2010), assim como reduz drasticamente o índice de área foliar, principalmente nas primeiras fases do ciclo da gramínea (PLÉNET; MOLLIER; PELLERIN, 2000).

A cultura do milho tem apresentado resposta a fontes de P para produção de biomassa (ERNANI; STECKLING; BAYER, 2001; CORRÊA et al., 2005; BATISTA et al., 2009) e componentes de produção (NARANG; SINGH, SINGH, 1989; AMANULLAH et al., 2009; RIVÉRA-HERNANDEZ et al., 2010), havendo superioridade dos fosfatos solúveis em relação aos naturais.

Dentre as fontes de P disponíveis no mercado, os fosfatos totalmente acidulados ocupam posição de destaque, pelo menor custo por unidade de P. Os principais fertilizantes fosfatados solúveis pertencem ao grupo dos superfosfatos, constituído pelo simples e pelo triplo, ou ao dos fosfatos amoniados, constituído pelo fosfato monoamônico (MAP) e pelo diamônico (DAP) (SOUSA; LOBATO, 2003).

Como alternativa ao uso dos superfosfatos, os fosfatos naturais têm sido amplamente estudados nos últimos anos, em decorrência do aumento da oferta no mercado brasileiro (HOROWITZ; MEURER, 2004). Esses fosfatos, quando reativos (de origem sedimentar), apresentam em sua estrutura alto grau de substituições isomórficas do fosfato por carbonato na apatita, resultando num cristal imperfeito, poroso, podendo ser mais facilmente solubilizados que os fosfatos não reativos (KAMINSKI; PERUZZO, 1997).

Fosfatos naturais de maior reatividade, como o Gafsa, tem mostrado eficiência equivalente ou superior para suprir P para plantas de ciclo curto quanto às formas mais solúveis, como os superfosfatos (HOROWITZ; MEURER, 2004). Tratando-se de um produto nacional, o fosfato Itafós é um fertilizante de origem sedimentar não reativo (BRASIL, 2007), podendo ser competitivo no mercado para as áreas que se localizarem próximo às jazidas, sendo que o preço imbutido no transporte onera o preço final do produto (GOEDERT; LOBATO, 1980). Há poucas informações sobre este produto na literatura, havendo a necessidade de maiores estudos, principalmente a longo prazo.

As misturas de fontes de P, utilizando fosfatos naturais com solúveis constituem uma alternativa agronômica e economicamente viável no fornecimento deste elemento (PIAIA et al., 2002; FRANZINI; MURAOKA; MENDES, 2009).

Buscando o melhor aproveitamento de fosfatos insolúveis, a inoculação com Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs) é uma opção para a promoção de crescimento e da solubilização de fosfatos inorgânicos, mediante excreção de ácidos orgânicos e colonização rizosférica (BOLAN et al., 1997).

A interação entre microrganismos e fontes de P é também uma forma de reduzir custos. Os microrganismos podem ser usados na forma de inoculantes visando o aumento da disponibilidade de P para as plantas, por meio da solubilização e mineralização do P de fontes inorgânicas e orgânicas, respectivamente (RICHARDSON, 2001). O principal efeito da solubilização de fosfato na promoção de crescimento de plantas está no aumento da biomassa e no teor de P das plantas (BASHAN; BASHAN, 2004).

Além de favorecer a solubilização dos fosfatos naturais, as rizobactérias podem aumentar a eficiência das fontes solúveis. Estas bactérias também possuem a capacidade de promover o crescimento radicular, permitindo assim maior exploração do solo e absorção de P, proporcionando maior interceptação radicular. Assim, o uso de rizobactérias promotoras do crescimento como inoculantes biológicos constitui uma alternativa para a produção sustentável (ROSAS et al., 2009), sendo uma tecnologia com potencial para melhorar a produtividade dos sistemas agrícolas, a longo prazo (NAIMAN; LATRÓNICO; SALAMONE, 2009). Com o intuito de aumentar a eficiência da utilização de P nos sistemas agrícolas, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento, os componentes de produção e a produtividade de plantas de milho, em resposta à aplicação de fontes naturais e solúveis de P associadas ou não à inoculação com *Pseudomonas fluorescens*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina – UEL, localizada à 23°20'23.45" S 51°12'32.28" W, 532 m de altitude, no município de Londrina-PR.

O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo subtropical úmido mesotérmico Cfa, clima, com verões quentes e geadas pouco frequentes, com tendência de concentração de chuvas nos meses de verão, sem estação seca definida, com precipitação média anual de 1.614 mm. A temperatura média anual é de 20,2°C, sendo a média das máximas 27,0°C e das mínimas 14,8°C. Os dados climáticos observados durante o ciclo do experimento são apresentados na Figura 3.1 (IAPAR, 2010).

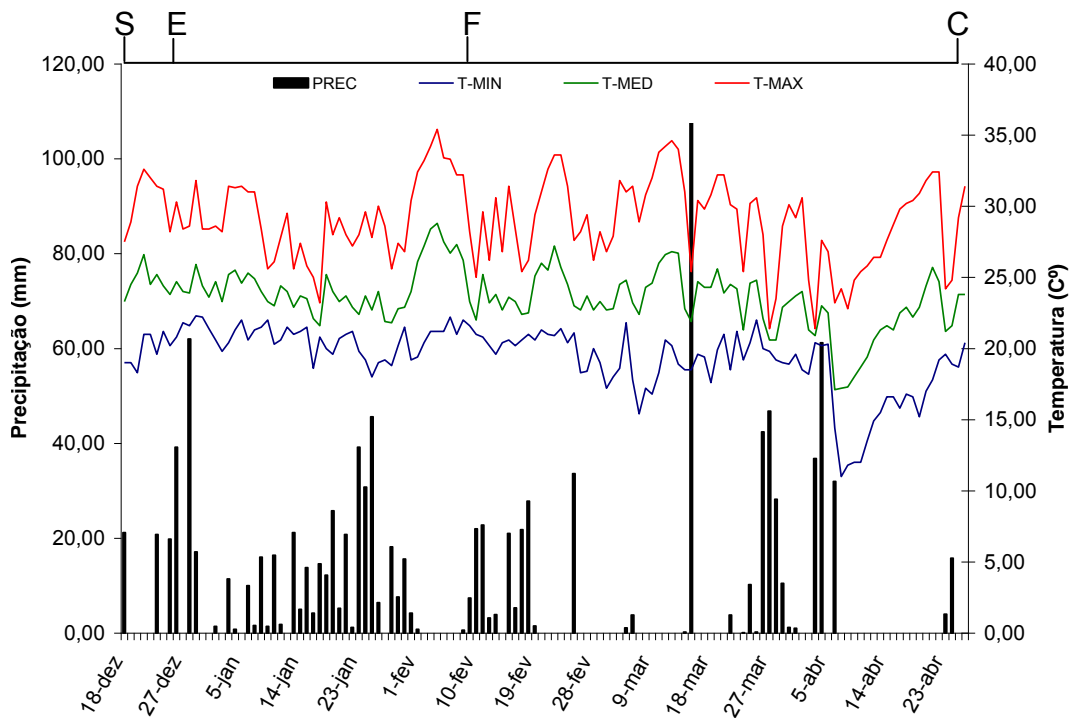


Figura 3.1. Ciclo da cultura, dados diários de precipitação pluvial e temperaturas máximas, médias e mínimas durante a condução do experimento para a cultura do milho, safra 2009/2010 (S=semeadura, E=emergência, F=florescimento pleno, C=colheita). (Fonte: IAPAR, 2010)

O experimento seguiu um esquema fatorial 6x2 em blocos casualizados, com 12 tratamentos e quatro repetições, totalizando 48 parcelas. Foram avaliadas seis fontes de P, constituídos pelo controle (sem P), Superfosfato

triplo - SFT (P-solúvel), fosfato de Gafsa (fosfato natural de origem sedimentar reativa), fosfato Itafós (fosfato natural de origem sedimentar não reativa), SFT+Gafsa e SFT+Itafós, associadas a dois níveis de inoculação com *Pseudomonas fluorescens* da Estirpe 1008 via sementes (sem e com). O P foi aplicado na dose de 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅ via solo, sendo que nas combinações (SFT+Gafsa e SFT+Itafós), utilizou-se 60 kg de P ha⁻¹ para cada fonte do nutriente.

Para a fonte de P solúvel (SFT), a aplicação foi realizada diretamente no sulco de semeadura, e para as fontes naturais (Gafsa e Itafós), utilizou-se aplicação a lanço na superfície, sem incorporação. Assim, quando houve a aplicação conjunta das fontes, as mesmas foram aplicadas separadamente. Junto aos tratamentos fosfatados, aplicou-se 60 kg ha⁻¹ de KCl, no sulco.

A concentração de P₂O₅ total e solubilidades em H₂O, citrato neutro de amônio + H₂O (CNA+ H₂O) e ácido cítrico a 2% (A.C.) das fontes de P utilizadas são apresentados na Tabela 3.1. De acordo com a Legislação, as exigências mínimas para um fosfato ser reativo são as seguintes: 27% de P₂O₅ total, mínimo de 30% do teor total solúvel em A.C. na relação 1:100, ou mínimo de 55% do teor total solúvel em Ácido Fórmico a 2% (BRASIL, 2007).

Tabela 3.1. Concentração de P₂O₅ total, solubilidades de P₂O₅ das fontes de P utilizadas em ácido cítrico a 2% (A.C.) relação 1:100, em citrato neutro de amônio + H₂O (CNA+H₂O) e em H₂O.

FONTE	TOTAL	% P ₂ O ₅		
		H ₂ O	CNA+H ₂ O	A.C.
SFT	45,00	37,00	41,00	40,40
GAFSA	29,58	0	6,51	10,00
ITAFÓS	23,17	0	-	5,50

Fonte: Prochnow, Alcarde e Chien (2004).

As parcelas foram constituídas por seis linhas de cinco metros de comprimento espaçadas em 0,9 m entre elas. Foram desconsideradas as duas linhas laterais e 0,5 m das extremidades das mesmas, sendo 14,4 m² a área útil de cada parcela.

O experimento foi instalado em um Latossolo Vermelho eutroférico (EMBRAPA, 2006) constituído por 80% de argila, cujas características químicas são apresentadas na Tabela 3.2. Não foi realizada calagem antes da instalação do experimento.

Tabela 3.2. Características químicas do solo da área experimental na profundidade 0-20 cm.

pH	CaCl ₂	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Al ⁺³	H+Al	CTC	V%	P*	Zn	B	C
		----- cmol _c dm ⁻³ -----							----- mg dm ⁻³ -----		g dm ⁻³	
4,90		3,51	0,69	0,32	0,12	4,61	9,12	49,50	6,61	1,35	0,72	13,40

*Mehlich-1

Utilizou-se o cultivar híbrido AG 8088, o qual possui a tecnologia YieldGard e o evento Mon 810 sendo modificada geneticamente com o gene da bactéria *Bacillus thuringiensis*. Esta característica é expressa como toxina para vários tipos de insetos-praga, promovendo o controle de lagartas como a broca-do-colmo, e a supressão da lagarta-do-cartucho e da lagarta-da-espiga. O AG 8088 é um híbrido simples com alto potencial de produção, possui excelente sanidade foliar, ciclo precoce e grão duro de cor alaranjada. É adaptável a regiões abaixo de 700 m de altitude, necessita de 871 graus dias para completar o ciclo e, densidade de 55-60 mil plantas ha⁻¹ (AGROCERES, 2011).

As sementes foram tratadas com o fungicida Maxim® XL (Fludioxonil + Metalaxyl-M), na dose de 100 mL por 100 kg de sementes. A dose utilizada na inoculação de *P. fluorescens*, nas sementes foi de 140 mL ha⁻¹, sendo 100 mL ha⁻¹ do inoculante Rizofós®, contendo a Estirpe 1008 (coleção de culturas da Rizobacter Argetina S.A.) na concentração de 10⁻⁸ células g⁻¹ (inoculante) e 40 mL ha⁻¹ de Premax R (protetor).

A semeadura ocorreu no dia 18/12/2009 de forma convencional. Aos 10 dias após emergência (DAE), realizou-se desbaste para obtenção de uma população final de 55 mil plantas ha⁻¹. A adubação de cobertura foi realizada em duas etapas, uma no estágio V4 e outra no V6. Utilizou-se ureia com aplicação de 100 kg de N ha⁻¹ (50 kg de N ha⁻¹ cada etapa) para todos os tratamentos. Após a adubação de cobertura, realizou-se incorporação total cobrindo o fertilizante com solo, utilizando enxada. O controle de plantas daninhas durante o ciclo da cultura foi realizado por meio de cultivador e capina manual. Devido o híbrido possuir a tecnologia YieldGard, não foi necessário realizar o controle de pragas durante o seu estágio vegetativo.

No estágio VT (pendoamento), aos 55 DAE, realizou-se avaliações da altura da planta (AP), diâmetro do colmo (DC) e altura da inserção da espiga (AIE). A altura da planta foi determinada medindo a distância do colo da planta à

extremidade superior do pendão. O diâmetro do colmo foi medido no primeiro entrenó acima do solo, com o auxílio de um paquímetro manual, no sentido de disposição das folhas. A altura da inserção da espiga foi determinada medindo-se o comprimento do colo da planta até a inserção da primeira espiga desenvolvida. Estas avaliações foram expressas em centímetros.

Aos 65 DAE, no estágio R1 (início do florescimento e polinização), coletou-se quatro plantas por parcela para as determinações de área foliar (AF) e massa seca total da planta (MST). A área do limbo foliar foi obtida com o auxílio de um medidor de área foliar, Li-Cor, modelo LI-3100, sendo os resultados expressos em cm^2 . Após esta etapa, as folhas e as demais partes da planta (pendão, espiga e colmo) foram transferidas para a estufa, à temperatura de 65°C . Atingida a massa seca constante, todas as partes foram pesadas em balança semi-analítica para obtenção da massa seca de folhas (MSF) e total (MST) por planta. As amostras das folhas, correspondentes a cada parcela do campo, foram trituradas em moinho tipo Willey, e posteriormente armazenadas em frasco de vidro subsequente à digestão nitroperclórica e dosagem colorimétrica (Metavanadato). A análise química para a determinação do P foi realizada conforme descrito em Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). Para a análise de tecido de P, foram coletadas todas as folhas de quatro plantas de cada parcela, consistindo, portanto, em uma metodologia diferente à utilizada na maioria dos trabalhos.

Por ocasião da colheita, aos 130 DAE no estágio R6, coletou-se aleatoriamente 10 espigas na área útil da parcela, para a realização das seguintes determinações: número de grãos por espiga (NG), massa de 100 grãos (M100), teor de P nos grãos (PG) e índice de colheita (IC).

Das espigas, contou-se individualmente, o número de fileiras de grãos e o número de grãos por fileiras, obtendo-se o valor médio. Multiplicando estes dois fatores, obteve-se o número de grãos por espiga.

Após a debulha das dez espigas colhidas na área útil da parcela, realizou-se a homogeneização do lote, e posteriormente, separou-se 100 grãos para pesagem em balança digital, obtendo-se a massa de 100 grãos.

A produtividade de grãos foi obtida por meio da pesagem dos grãos obtidos de todas as espigas colhidas na área útil da parcela, corrigindo a umidade para 13% e transformando os dados em kg ha^{-1} . O teor de água dos grãos foi obtido

por um medidor de capacitância digital, G600. O aparelho foi ajustado e calibrado para a cultura do milho.

As amostras de grãos de milho correspondentes aos blocos no campo foram submetidas à secagem, moídas e analisadas posteriormente para determinação do teor de P (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997). O índice de colheita foi determinado pela relação massa de grãos/massa seca total da planta. A massa de grãos e a massa seca total da planta foram representadas pela produtividade de grãos e massa seca total das plantas de cada parcela, em kg ha⁻¹.

A eficiência agrônômica relativa (EAR) foi calculada pela seguinte fórmula:

$$EAR (\%) = \frac{Y_{\text{tratamento}_i} - Y_{\text{controle}}}{Y_{\text{tratamentopadrão}} - Y_{\text{controle}}}$$

Onde:

$Y_{\text{tratamento}_i}$: é a resposta média obtida com a aplicação da fonte i;

$Y_{\text{tratamento padrão}}$: é a resposta média obtida da fonte padrão sem inoculação (SFT) =100%;

Y_{controle} : é a resposta média obtida do controle sem inoculação (sem P) =0%;

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as variáveis analisadas por ocasião do florescimento masculino, houve efeito significativo de fontes de P para massa seca de folhas (MSF) e massa seca total (MST). A inoculação de *P. fluorescens* nas sementes influenciou significativamente a altura da inserção da espiga (AIE). Para altura de plantas (AP) e teor de P foliar (PF) houve interação significativa entre os fatores avaliados (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Dados médios de área foliar (AF), altura de planta (AP), altura de inserção da espiga (AIE), diâmetro do colmo (DC), massa seca foliar (MSF), massa seca total (MST) e teor de P foliar (PF) em plantas de milho em função de diferentes fontes de P, com e sem a inoculação de *Pseudomonas fluorescens*.

CAUSA DE VARIAÇÃO	AP	AIE	DC	AF	MSF	MST	PF
Fontes de P	-----cm-----			cm ²	----- kg ha ⁻¹ -----		g kg ⁻¹
CONTROLE (sem P)	188,68	110,88	3,26	33498,22	3456,93 B	15632,45 ABC	1,1
SFT	201,73	111,03	3,27	38125,37	4205,10 A	17631,97 A	1,6
GAFSA	190,23	104,23	3,26	35948,82	3758,39 AB	12577,30 C	2,0
ITAFOS	187,63	103,48	3,18	36304,63	3853,79 AB	12955,59 BC	2,1
SFT+GAFSA	193,95	111,70	3,24	35085,13	4044,57 AB	15776,75 ABC	2,4
SFT+ITAFÓS	192,88	102,20	3,43	37960,73	4203,38 A	16565,49 AB	2,7
Níveis de Inoculação							
Sem inoculante	191,16	104,66 b	3,24	36373,01	3979,43	15306,31	1,9
Com inoculante	193,87	109,84 a	3,29	35934,62	3861,29	15073,54	2,0
VALOR DE F							
Fonte	3,36*	2,18 ^{ns}	0,83 ^{ns}	2,03 ^{ns}	2,80*	5,26**	11,07*
Inoculante	1,41 ^{ns}	4,58*	0,29 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,50 ^{ns}
Fonte X Inoculante	3,17*	2,33 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,60 ^{ns}	1,22 ^{ns}	1,02 ^{ns}	3,67*
CV(%)	4,10	7,82	8,33	9,64	12,53	16,33	24,94

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

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

Para AIE, DC e AF, não houve efeito significativo de fontes. Corroborando com esses resultados, Pauletti et al. (2010) também não observaram efeito da aplicação de P na altura de inserção de espigas em plantas de milho. Sarker, Karmoker e Rashid (2010), afirmam que a deficiência de P prejudica a formação do colmo em plantas de milho, resultando em diâmetros menores. Grazia et al. (2003), relataram não ter observado aumentos no diâmetro do colmo com a adubação fosfatada. Plénet et al. (2000) e Plénet, Mollier e Pellerin (2000), mostraram que a deficiência de P reduz drasticamente o índice de área foliar,

principalmente nas primeiras fases do ciclo da gramínea. Na fase reprodutiva, a deficiência provoca a formação de espigas tortas e com falhas nas fileiras de grãos, maturação retardada e desuniforme (FORNASIERI FILHO, 2007).

Considerando a análise química do solo realizada antes do experimento ser implantado, o teor de P ($6,61 \text{ mg dm}^{-3}$) é considerado médio (COELHO; FRANÇA, 1995), levando-se em conta o teor de argila ($>60\%$). Assim, como não foi observado os sintomas que caracterizam a deficiência de P na fase reprodutiva do milho, pode-se afirmar que este teor proporcionou suporte de P necessário para que as plantas de milho crescessem e se desenvolvessem até o florescimento, não apresentando diferenças nas variáveis AIE, DC e AF entre as fontes de P aplicadas.

Amanullah et al. (2010), observaram aumentos significativos na área foliar aplicando fosfatos solúveis (DAP e SFS) em relação ao controle (solo argiloso com $6,57 \text{ mg dm}^{-3}$ de P), diferindo dos dados deste estudo. Além do teor de P ter-se encontrado em um nível intermediário, outro fator que pode ter favorecido o desenvolvimento da área foliar foi a regular precipitação ocorrido durante o cultivo da cultura ($1111,77 \text{ mm}$). A população microbiana aumenta nos períodos de chuva, e provavelmente favorecem a degradação dos resíduos culturais predispondo a ciclagem dos nutrientes (OSAKI, 2008).

Embora não tenha sido detectado efeito de fontes para AF, houve diferença significativa ($p < 0,05$) do SFT e SFT+Itafós em relação ao controle para massa seca de folhas (MSF), e SFT em relação ao fosfato de Gafsa e Itafós para massa seca total (MST) ($p < 0,01$) (Tabela 3.3).

A aplicação isolada de SFT para MSF não diferiu da aplicação dos fosfatos naturais isolados e dos tratamentos combinados. Piaia et al. (2002) e Franzini, Muraoka e Mendes (2009), afirmaram que a disponibilidade de P de uma fonte insolúvel pode ser aumentada se combinada com uma fonte solúvel de P. Esta combinação é interessante, devido aos fosfatos reativos possuírem eficiência similar aos solúveis em água quando computado o efeito residual a longo prazo (GOEDERT; LOBATO, 1984). Entretanto, esta maior disponibilização depende da forma em que se aplica o fertilizante fosfatado no solo (FRANZINI et al., 2009). Oliveira Junior (2007), observou melhores resultados na aplicação do fosfato reativo a lanço, comprovando a necessidade do maior contato com o solo para acelerar a disponibilidade gradual do P para o solo. Ernani, Steckling e Bayer (2001),

observaram aumentos na MSF utilizando DAP em relação ao Arad, em um solo não corrigido. Batista et al. (2009), avaliando o efeito de fontes de P em diferentes concentrações de alumínio em um solo arenoso, relataram aumentos na massa seca de parte aérea, aplicando SFT em relação ao Arad. Corrêa et al. (2005), em um solo com maior capacidade de fixação de P, observaram aumentos na massa seca de parte aérea utilizando SFT, em relação ao Gafsa. Segundo Kaminski e Peruzzo (1997), o efeito residual das fontes de menor solubilidade, pode com o tempo, compensar a indisponibilidade deste elemento em relação aos primeiros cultivos, sendo proporcional ao ganho inicial das fontes solúveis.

Os fosfatos de Gafsa e Itafós aplicados individualmente mostraram-se inferiores ao SFT para MST. Contudo, quando combinados com a fonte solúvel foram estatisticamente igual ao SFT. Estes resultados estão de acordo com os trabalhos de Piaia et al. (2002) e Franzini, Muraoka e Mendes (2009), que obtiveram incrementos positivos para matéria seca de parte aérea, que é diretamente relacionada ao MST. Esta aplicação de fosfatos naturais combinados com fosfatos solúveis sugere uma alternativa viável para a correção fosfatada nos sistemas de produção agrícolas, principalmente a longo prazo.

A inoculação com a rizobactéria *P. fluorescens* favoreceu a altura da inserção da espiga (AIE em relação a não inoculação) ($p < 0,05$) (Tabela 3.3). Muitas bactérias rizosféricas proporcionam aumentos fitométricos da raiz à parte aérea, favorecendo o crescimento e o desenvolvimento das culturas (HARTHMANN et al., 2010). A promoção do crescimento de plantas pode ser realizada por rizobactérias antagonistas à microrganismos fitopagênicos e outros deletérios, que reduzem o crescimento das plantas. As características mais comuns a este tipo de antagonismo envolvem a produção de sideróforos e antibióticos, cujo efeito é atribuído à produção microbiana de hormônios vegetais ou reguladores do crescimento vegetal (CATTELAN; HARTEL, 2000). Contudo esse aumento também pode ser devido à disponibilização de formas não lábeis de P ou ainda, devido à promoção do crescimento radicular.

O desdobramento da interação de fontes de P e níveis de inoculação com *P. fluorescens* para altura de plantas (AP) é apresentado na Figura 3.2. Quando associadas com a inoculação de *P. fluorescens* o SFT isolado resultou em maior AP, não diferindo, entretanto, do SFT+Gafsa. Na ausência de inoculação as fontes de P não diferiram em relação à AP. Kumaresn, Shanmugasundaram e Balasubramanian

(2001), encontraram aumentos na altura e massa seca de plantas de milho aplicando 75% do recomendado de SFS. Este trabalho está de acordo com este estudo, sendo que nas combinações do P solúvel com os fosfatos naturais somente utilizou-se 50% da dose aplicada, e obteve-se resultados semelhantes ao SFT isolado.

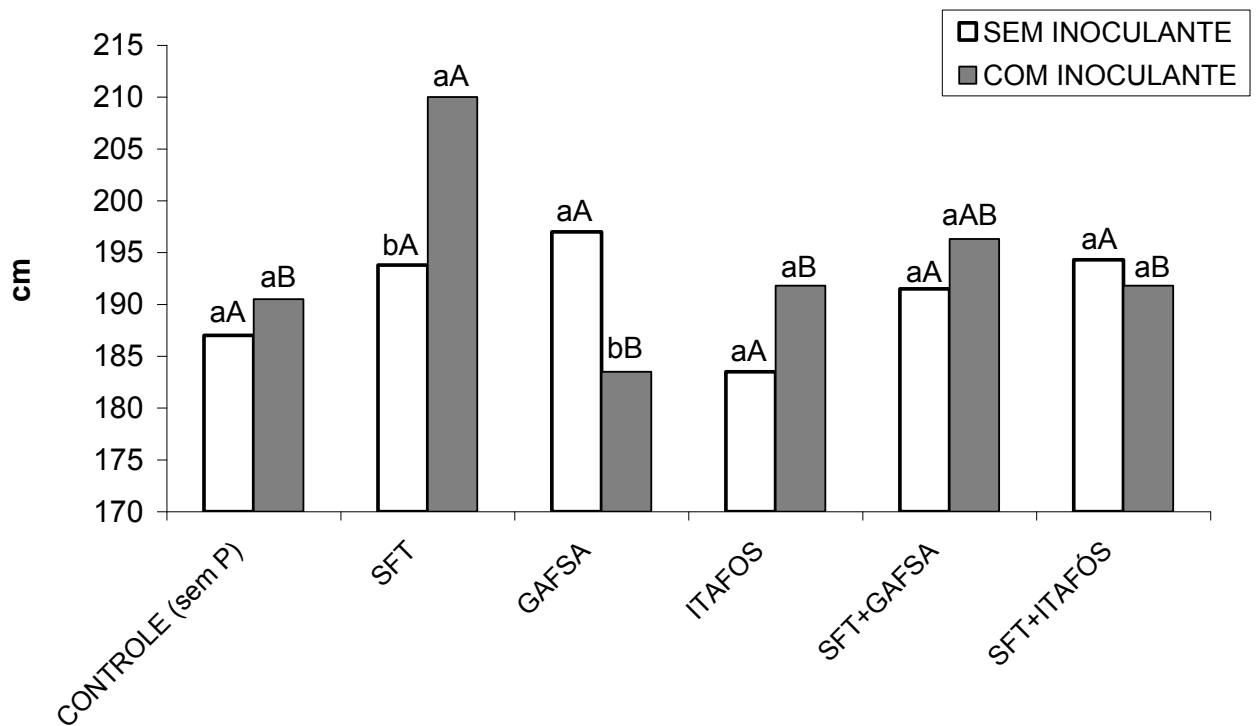


Figura 3.2. Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação via sementes de *P. fluorescens* para altura de plantas de milho (AP). Letras maiúsculas equivalem às fontes de P comparadas em cada nível de inoculação (colunas de mesma cor), e minúsculas aos níveis de inoculação de *P. fluorescens* em cada fonte de P (colunas pareadas), a qual sendo diferentes entre si são significativas pelo teste de Tukey a $p < 0,05$.

Quando utilizado a fonte de P solúvel (SFT), a inoculação proporcionou maior altura de plantas, em relação à não inoculação. Para o fosfato de Gafsa, a não inoculação de *P. fluorescens* favoreceu a AP em relação à presença da inoculação. Então, provavelmente, o problema não esteja nos microrganismos do solo e nem no clima, e sim no fosfato de Gafsa. Este pode ser um fator intrínseco, existindo incompatibilidade na inoculação destas rizobactérias associadas à esta fonte.

Tratando-se de plantas e microrganismos, diferentes mecanismos na excreção de H^+ (ARCAND; SCHNEIDER, 2006), na produção de ácidos orgânicos (ESPINOSA-VICTORIA; LÓPEZ-REYES; DE LA CRUZ-BENÍTEZ, 2009), ácidos inorgânicos e agentes quelantes podem fornecer aumentos na eficiência de solubilização de fosfatos (JEON et al., 2003). Assim, o melhor resultado de altura de plantas observado com a utilização da fonte solúvel, pode ter ocorrido devido à diminuição do pH do solo, sendo favorecida pela produção de ácidos orgânicos e inorgânicos realizado pelas plantas e pelas bactérias na rizosfera, associadas à hidrólise do fosfato promovida pelo SFT (BRAGA; AMARAL, 1971).

Para altura de plantas de milho, Chabot, Antoun e Cescas (1996), relataram aumentos inoculando isolados de *Pseudomonas* e *Rhizobia*, aplicando metade da dose recomendada de $P\ ha^{-1}$. Fankem et al. (2008), em solo ácido e escasso de P, obtiveram maiores valores de altura e massa seca de plantas de milho em duas das três estirpes de *P. fluorescens* utilizadas, em relação ao controle. No milho, Vyas e Gulati (2009), também encontraram diferenças significativas na altura de plantas de milho, entre a inoculação de 15 estirpes de *Pseudomonas* em relação ao tratamento não inoculado, com destaque para a estirpe BIHB 759. Assim como, Biari, Gholami e Rahmani (2008), encontraram efeitos positivos na altura de plantas de milho utilizando *Azospirillum* e *Azotobacter*. Também considerando plantas de trigo por ser uma *Poaceae*, Carlier et al. (2008), encontraram aumentos na AP de 14% na inoculação de *P. chlororaphis*, e Luz (2001), com aumentos utilizando várias espécies de RPCPs, sendo ambos os trabalhos significativos em relação ao controle. O presente trabalho está de acordo com (CHABOT; ANTOUN; CESCAS, 1996; BIARI; GHOLAMI; RAHMANI, 2008; FANKEM et al., 2008; VYAS; GULATI, 2009), a qual obtiveram aumentos na AP inoculando RPCPs em relação ao controle, na cultura do milho. Estes trabalhos reforçam a eficiência das RPCPs fazendo dessas uma opção viável para o aumento da altura e da massa seca das plantas.

Ehteshami et al. (2007), afirmaram que as RPCPs são mais eficazes na promoção do crescimento das plantas sob suprimento limitado de nutrientes. Assim, a inoculação com *P. fluorescens* pode não ter sido significativa para o controle, assim como para outras fontes de P estudadas, devido o teor de P não estar crítico, tornando a ação da rizobactéria menos nítida.

Para PF, os tratamentos SFT+Itafós e SFT+Gafsa foram superiores em relação ao tratamento controle sem inoculação, e SFT+Itafós, SFT+Gafsa, Itafós e Gafsa em relação ao controle inoculado, sendo significativo ($p < 0,01$) para fontes de P (Figura 3.3). O maior valor observado para PF entre as fontes de P foi SFT+Itafós sem inoculação, a qual apresentou incremento médio de 167% no teor de P foliar, em relação ao controle sem inoculação.

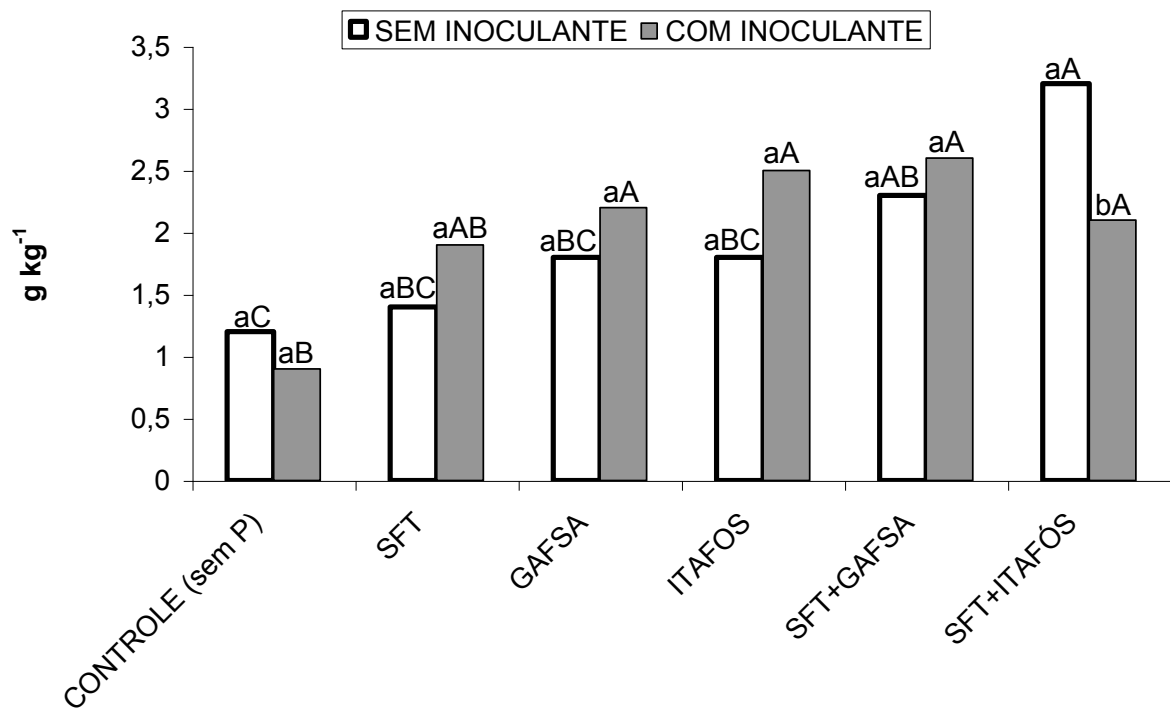


Figura 3.3. Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação via sementes de *P. fluorescens* para teor de P foliar em milho (PF). Letras maiúsculas equivalem às fontes de P comparadas em cada nível de inoculação (colunas de mesma cor), e minúsculas aos níveis de inoculação de *P. fluorescens* em cada fonte de P (colunas pareadas), a qual sendo diferentes entre si são significativas pelo teste de Tukey a $p < 0,01$.

No tratamento Itafós a inoculação de *P. fluorescens* favoreceu o PF em relação ao tratamento não inoculado. Já para o SFT+Itafós a ausência da inoculação promoveu maior teor de PF em relação à presença da rizobactéria.

Esitken et al. (2010), observaram maior teor de P nas folhas de milho com a inoculação de *Bacillus*, devido à sua capacidade de solubilização do fosfato. Jeon et al. (2003), avaliaram a solubilização de fosfato por três isolados de *P. fluorescens* e *Bacillus* sp. Naz e Bano (2010), relataram três espécies do gênero

Pseudomonas capazes de solubilizar fosfato inorgânico por intermédio da produção de fitohormônios. Aumentos no teor de P nas folhas com a inoculação de RPCPs pode ser explicado pela capacidade de solubilizar fosfato que esta bactéria possui, e também pela produção de ácidos orgânicos pelas plantas e bactérias na rizosfera, a qual estimula principalmente a disponibilidade de P na solução do solo (ESITKEN et al, 2010). Estes trabalhos evidenciam o papel da *P. fluorescens* no aumento da solubilização de P para as plantas. O trabalho de Esitken et al. (2010) está de acordo com o presente estudo, a qual utilizando RPCPs como inoculante em sementes de milho, obtiveram maior PF.

No tratamento Itafós, este como um fosfato de origem sedimentar não reativo (BRASIL, 2007), obteve-se superioridade para PF com a inoculação da rizobactéria em relação ao tratamento não inoculado. Este resultado idealiza o fato de que a inoculação com *P. fluorescens* via semente solubilizou P inorgânico para a solução aumentando sua concentração no meio, e conseqüentemente, a planta obteve maior absorção foliar. No tratamento em que houve a combinação de SFT+Itafós, o efeito foi contrário, sendo a não inoculação de *P. fluorescens* superior à inoculação via semente. A rizobactéria mostrou maior resposta no fosfato mais insolúvel a qual não há P disponível.

Para número de grãos por espiga (NG), massa de 100 grãos (M100), teor de P nos grãos (PG), produtividade de grãos (PROD) e índice de colheita (IC) não houve efeito de fontes de P (Tabela 3.4). Rivéra-Hernandez et al. (2010), observaram aumentos no número de fileiras e grãos por fileira em plantas de milho em função da adubação fosfatada. Já Narang, Singh e Singh (1989) relataram aumentos na massa de 100 grãos com adubação fosfatada. Amanullah et al. (2009), avaliando diferentes fontes de P, relataram aumentos na massa de 100 grãos e na produção de grãos com fosfatos solúveis. Entretanto, todos estes experimentos foram instalados em condições limitantes de P, enfatizando o efeito do adubo fosfatado nos componentes de produção quando existe a deficiência deste elemento. Diferente da condição deste experimento, a qual possuiu teores médios de P no solo.

Carneiro et al. (2008), não encontraram significância entre fosfato solúvel e insolúvel para o teor de P nos grãos de milho (4,1-4,2 g kg⁻¹). Tang et al. (2008), observaram o teor de 2,1 g kg⁻¹ de P nos grãos de milho aplicando NPK, em

15 anos de rotação com trigo. Estes valores estão de acordo com a variação ocorrida no presente estudo para teor de P nos grãos (PG) (2,7-4,7 g kg⁻¹).

Tabela 3.4. Dados médios número de grãos por espiga (NG), massa de 100 grãos (M100), teor de P nos grãos (PG), produtividade de grãos (PROD) e índice de colheita (IC) em plantas de milho em função de diferentes fontes de P, com e sem a inoculação de *Pseudomonas fluorescens*.

CAUSA DE VARIAÇÃO	NG	M100	PG	PROD	IC
Fontes de P		g	g kg ⁻¹	kg ha ⁻¹	
CONTROLE (sem P)	592,89	30,38	2,69	6190,43	0,29
SFT	641,57	31,69	3,19	7296,28	0,30
GAFSA	607,97	31,63	3,58	6418,51	0,34
ITAFOS	610,36	30,25	4,70	6428,19	0,34
SFT+GAFSA	619,72	30,44	3,75	6603,75	0,29
SFT+ITAFÓS	618,73	31,88	3,75	6665,16	0,29
Níveis de Inoculação					
Sem inoculante	617,43	31,19	3,34	6381,46	0,30
Com inoculante	612,72	30,90	3,88	6819,31	0,32
VALOR DE F					
Fonte	1,47 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,69 ^{ns}	0,80 ^{ns}	1,14 ^{ns}
Inoculante	0,19 ^{ns}	0,24 ^{ns}	1,62 ^{ns}	1,60 ^{ns}	0,69 ^{ns}
Fonte X Inoculante	0,29 ^{ns}	0,36 ^{ns}	1,62 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,74 ^{ns}
CV(%)	6,07	6,66	40,38	18,18	20,33

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

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

Tratando-se da produtividade de grãos (PROD), é provável que os fatores estudados não tenham exercido efeito devido ao teor de P no solo encontrar-se em um nível adequado. O P presente no solo na ausência de adubação fosfatada supriu a necessidade de P da planta, a qual obteve a produção de 6190 kg ha⁻¹ de grãos, estatisticamente igual à maior produtividade (7296,28 kg ha⁻¹) obtida com o SFT. Como a lixiviação de P no solo não é uma realidade em condições tropicais, ele tende a se acumular no solo (COELHO; FRANÇA, 1995), de modo que, o efeito da adubação corretiva perdura por vários anos, principalmente quando se utilizam fosfatos de liberação lenta, como os fosfatos naturais não reativos (GOEDERT; LOBATO, 1984).

Pauletti et al. (2010), com a aplicação do fosfato Carolina do Norte e Gafsa em relação ao SFT, encontraram resultados semelhantes de produção de grãos em vários cultivos seqüentes. No presente trabalho, os fosfatos reativos Gafsa

e Itafós, tanto quanto as combinações SFT+Gafsa e SFT+Itafós, inclusive o controle, foram estatisticamente iguais ao SFT isolado.

Há uma notável diferença entre genótipos de milho na capacidade de alocar massa seca de grãos (SANGOI; SALVADOR, 1997). Rivera-Hernández et al. (2010), não observaram efeito no IC com a adubação fosfatada em plantas de milho, atingindo uma média de 0,28. Amanullah et al. (2009), relataram diferença entre fontes fosfatadas na cultura do milho, obtendo uma variação no IC de 0,32-0,39. Estes valores estão de acordo com os resultados obtidos para esta variável (0,29-0,34).

Não houve efeito significativo dos níveis de inoculação para as características apresentadas na Tabela 3.4. Segundo Ehteshami et al. (2007), as RPCPs apresentam maior efeito em solos com deficiência de nutrientes. Estes autores não obtiveram efeitos na produção de grãos e componentes de produção com a inoculação individual de *P. fluorescens*.

Na Figura 3.4, são apresentados os dados da eficiência agronômica relativa (EAR) dos tratamentos, calculada com base nas respostas das plantas quanto à produtividade de grãos (PROD), sendo o SFT (sem inoculação), a fonte padrão (100%). A aplicação das fontes naturais de P (Gafsa e Itafós) apresentou baixos valores de EAR. A fonte SFT+Gafsa (sem inoculação) resultou em 56% de EAR.

Na inoculação de *P. fluorescens* para o controle (sem adição de P), houve 83% de EAR. Na fonte SFT+Gafsa, a inoculação da rizobactérias partiu de 56%, resultando em 87%. As *P. fluorescens* pode ter maximizado a disponibilidade de P para as plantas pelo mecanismo da produção de ácidos orgânicos produzidos pelos microrganismos e pela raiz (JEON et al., 2003), mesmo não havendo limitação deste nutriente no solo.

Para as fontes insolúveis e SFT+Itafós, não houve diferença na inoculação com *P. fluorescens*.

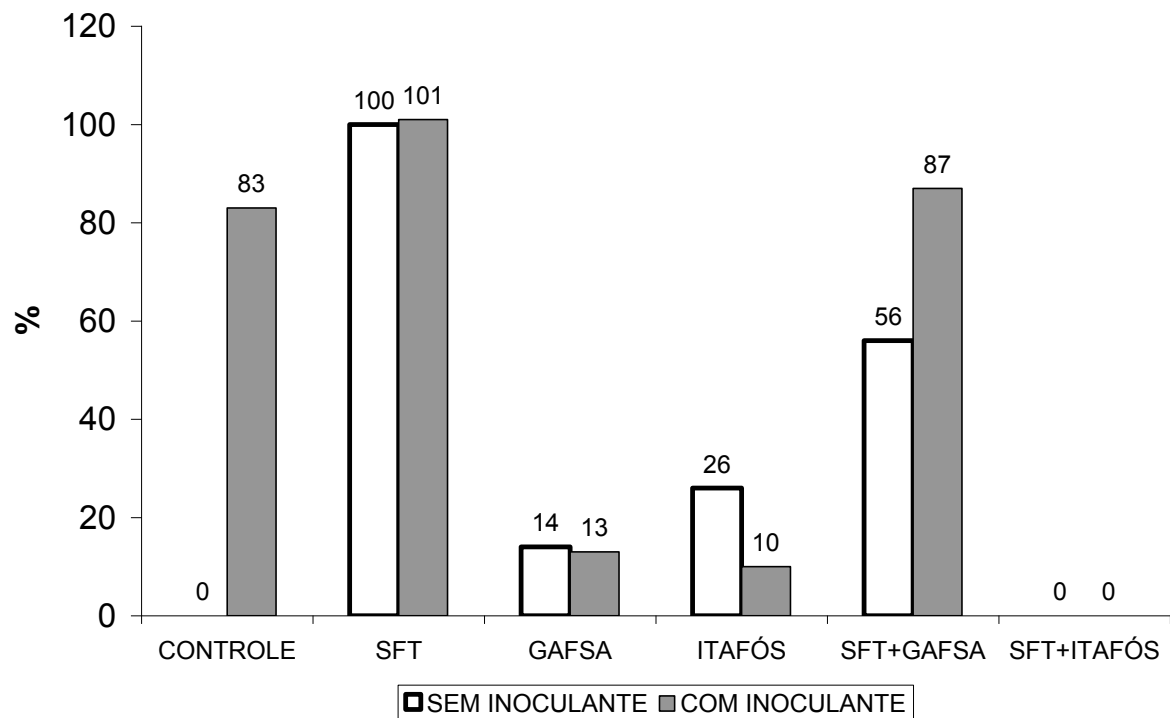


Figura 3.4. Eficiência Agrônômica Relativa (EAR) para produtividade de grãos (PROD).

Os menores valores de EAR das fontes de Gafsa e Itafós estão relacionadas com a fração não-solúvel, quando se reduz o contato entre o solo e o fertilizante (KHASAWNEH; DOLL, 1978).

A fonte SFT+Itafós (sem e com inoculação) foi semelhante ao controle (sem inoculação). Este resultado pode ter ocorrido devido à condição deste solo (argiloso com teor intermediário de P), a qual pode ter fixado todo o P solúvel (SFT) devido aos altos teores de óxidos de ferro e alumínio que este solo contém, e não solubilizado o P insolúvel (Itafós) devido à esta fonte fosfatada ser natural não reativa.

Considerando a boa distribuição de chuvas ocorrida na safra 2009/10 há uma tendência para a proliferação microbiana no solo, tornando uma melhor condição para o crescimento e desenvolvimento das plantas devido à maior decomposição de resíduos vegetais e ciclagem dos nutrientes no solo (OSAKI, 2008). Desta forma, a condição imposta neste experimento, com um teor adequado de P no solo e elevada precipitação distribuída durante o ciclo da cultura, não caracteriza limitação para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Pode-se afirmar que estes fatores não foram favoráveis para *P. fluorescens* na solubilização

de fosfato inorgânico e na promoção de crescimento, apesar de haver significância estatística com a inoculação da rizobactéria para AIE, AP e PF.

Mesmo nesta condição intermediária de P no solo, a cultura do milho respondeu às fontes SFT e SFT+Itafós para MSF em relação ao controle, e SFT+Itafós para MST, em relação ao fosfato de Gafsa. Este resultado demonstra a importância deste nutriente à cultura, e o potencial que estas fontes possuem em aumentar a biomassa seca de plantas de milho.

Com a inoculação de *P. fluorescens*, o controle (sem adição de P) não apresentou diferenças significativas para PROD. Entretanto, esta aplicação proporcionou um aumento de 1105,05 kg ha⁻¹, equivalente à 18,4 sacos por hectare. Assim, para esta condição a inoculação de *P. fluorescens* mostrou ser uma alternativa economicamente viável em relação aos outros tratamentos, principalmente às fontes que envolviam fontes solúveis e insolúveis.

Tratando-se das fontes fosfatadas, pode-se realizar o manejo da adubação fosfatada aplicando-se os fosfatos naturais e acidulados, mantendo o nível tecnológico utilizado. Assim, o teor adequado de P no solo é mantido com a disponibilidade imediata do mesmo com os acidulados, e liberado gradualmente com os naturais, possuindo potencial de alta produção biológica vegetal das plantas de milho. Salienta-se a importância do estudo continuado dos fosfatos naturais reativos, principalmente associados com fontes solúveis, e também das rizobactérias promotoras de crescimento de plantas.

3.4 CONCLUSÃO

As fontes naturais proporcionam massa seca de folhas semelhante às fontes que há a presença de SFT.

O SFT aplicado conjuntamente com Itafós apresentou valores superiores para o teor de P foliar.

A inoculação com *P. fluorescens* promoveu a altura da inserção da espiga, e a altura de plantas na utilização de SFT.

Os níveis de inoculação e as fontes de P não apresentaram efeito para a produtividade de grãos. Entretanto, no controle (sem adição de P), a inoculação desta rizobactéria produziu 87% de EAR.

A combinação de fosfatos naturais com P solúvel pode ser uma nova opção para o manejo da fertilidade do solo.

3.5 REFERÊNCIAS

AGROCERES. SEMENTES AGROCERES. Disponível em:

<http://www.sementesagroceres.com.br/?page_id=568>. Acesso em: 19 jan. 2011.

AMANULLAH et al. Impact of planting density and P-fertilizer source on the growth analysis of maize. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v.42, n.4, p.2349-2357, 2010.

AMANULLAH et al. Effects of phosphorus fertilizer source and plant density on growth and yield of maize in Northwestern Pakistan. **Journal of Plant Nutrition**, London, v.32, n.12, p.2080-2093, 2009.

ARCAND, M. M.; SCHNEIDER, K. D. Plant- and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.78, p.791-807, 2006.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. Plant growth promoting bacteria. In: **Encyclopaedia of Soils in the Environment**. v.1 (Ed. Hillel, D.), p.103-115. Oxford, UK: Elsevier. 2004

BATISTA, M. A. et al. Mineral composition and dry mass production of the corn plants in response to phosphorus sources and aluminum concentration. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.52, n.3, p.541-548, 2009

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.

BRAGA, J. M.; AMARAL, F. A. Efeito de fontes de P na variação de pH e disponibilidade de P, cálcio e magnésio. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 17, p. 325-335, 1971.

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.

CARLIER, E. et al. Improvement of growth, under field conditions, of wheat inoculated with *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* SR1. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, New York, v.244, p.2653-2658, 2008.

CARNEIRO, L. F. et al. Fontes, doses e modos de aplicação de P na interação P-zinco em milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.4, p.1133-1141, 2008.

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.; ANTOUN, H.; CESCAS, M. P. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.184, n.2, p.311-321, 1996.

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de. Nutrição e adubação. In: POTAFOS. **Seja doutor do seu milho**. 2 ed. Piracicaba, 1995. p.1-9. (Arquivo do Agrônomo, 2).

CORRÊA, R. M. et al. B. Gafsa rock phosphate and triple superphosphate for dry matter production and P uptake by corn. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.62, n.2, p.159-164, 2005.

EHTESHAMI, S. M. R. et al. Effect of phosphate solubilizing microorganisms on quantitative and qualitative characteristics of maize (*Zea mays* L.) under water deficient stress. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Lasani Town Faisalabad, v.10, p.3585-3591, 2007.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

ERNANI, P. R.; STECKLING, C.; BAYER, C. Características químicas de solo e rendimento de massa seca de milho em função do método de aplicação de fosfatos, em dois níveis de acidez. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.939-946, 2001.

ESITKEN, A. et al. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.124, n.1, p.62-66, 2010.

ESPINOSA-VICTORIA, D.; LÓPEZ-REYES, L., DE LA CRUZ-BENÍTEZ, A. Use of 16S rRNA gene for characterization of phosphate-solubilizing bacteria associated with corn. **Revista Fitotecnia Mexicana**, Chapingo, v.32, n.1, p.31-37, 2009.

FANKEM, H. et al. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated acidic soils of Cameroon. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v.2, p.171-178, 2008.

FLETCHER, A. L.; MOOT, D. J.; STONE, P. The effect of fertiliser P on crop biomass production, partitioning, and quality in "Challenger" sweet corn. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v.57, n.11, p.1213-1219, 2006.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal : Funep, 2007. 576p.

FRANZINI, V. I. et al. Eficiência de fosfato natural reativo aplicado em misturas com superfosfato triplo em milho e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.9, 2009.

FRANZINI, V. I.; MURAOKA, T.; MENDES, F. L. Ratio and rate effects of ³²P-triple superphosphate and phosphate rock mixtures on corn growth. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.66, n.1, p.71-76, 2009.

GOEDERT, W. J.; LOBATO, E. Avaliação agronômica de fosfatos em solos de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.18, p.119-24, 1984.

GOEDERT, W. J.; LOBATO, E. Eficiência agronômica de fosfatos em solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.15, n.3, p.311-318, 1980.

GRAZIA, J. et al. Short communication: Phosphorus and nitrogen fertilisation in sweet corn (*Zea mays* L. var. *saccharata* Bailey). **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v.1, n.2, p.103-107, 2003.

HARTHMANN, 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 agronômica de fosfatos naturais. In: SIMPÓSIO SOBRE P NA AGRICULTURA BRASILEIRA. Piracicaba, 2004. **Anais**. Piracicaba, Potafos/Anda, 2004. 24p.

IAPAR – Instituto Agronômico do Paraná. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=641>>. Acesso em 20 ago. 2010.

JEON, J. S. et al. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. **Journal of Microbiology**, Seoul, v.41, n.4, p.271-276, 2003.

KAMINSKI, J.; PERUZZO, G. **Eficácia de fosfatos naturais reativos em sistemas de cultivo**. Santa Maria, Núcleo Regional Sul da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. 31p. (Boletim Técnico No.3)

KUMARES, M. A.; SHANMUGASUNDARAM, V. S.; BALASUBRAMANIAN, T. N. Integrated phosphorus management in maize (*Zea mays* L.) sunflower (*Helianthus annuus*)-cowpea (*Vigna unguiculata*) fodder cropping system. **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v.46, n.3, p.404-409, 2001.

LUZ, W. C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.3, 2001.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

NAIMAN, A. D.; LATRÓNICO, A.; SALAMONE, I. E. G. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impact on the production and culturable rhizosphere microflora. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v.45, n.1, p.44-51, 2009.

NARANG, R. S.; SINGH, N.; SINGH, S. Response of winter maize (*Zea-mays* L.) to different soil-moisture regimes and phosphorus levels. **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v.34, n.4, p.402-405, 1989.

NAZ, I.; BANO, A. Biochemical, molecular characterization and growth promoting effects of phosphate solubilizing *Pseudomonas* sp. isolated from weeds grown in salt range of Pakistan. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.334, n.1-2, p.199-207, 2010.

OLIVEIRA JUNIOR, A. de. **Eficiência agrônômica de fosfatos de rocha, utilizados isoladamente ou associados ao superfosfato triplo, para a cultura da soja**. 2007. 124f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.

OSAKI, F. **DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE MICRORGANISMOS E FERTILIDADE EM SOLOS DE DOIS ECOSISTEMAS FLORESTAIS: FLORESTA OMBRÓFILA MISTA E POVOAMENTO FLORESTAL COM *Pinus taeda* L. EM TIJUCAS DO SUL-PR**. 2008. 281f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

PAULETTI, V. et al. Yield response to fertilization strategies in no-tillage soybean, corn and common bean crops. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.53, n.3, p.563-574, 2010.

PIAIA, F. L. et al. Eficiência da adubação fosfatada com diferentes fontes e saturações por bases na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.3, p.488-499, 2002.

PLÉNET, D. et al. Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency. I. Leaf growth. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.223, n.1-2, p.117-130, 2000.

PLÉNET, D.; MOLLIER, A.; PELLERIN, S. Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency. II. Radiation-use efficiency, biomass accumulation and yield components. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.224, n.2, p.258-272, 2000.

PROCHNOW, L. I.; ALCARDE, J. C.; CHIEN, S. H. Eficiência agronômica dos fosfatos totalmente acidulados. In: SIMPÓSIO SOBRE P 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.

RIVÉRA-HERNANDEZ, B. et al. Morphological quality of sweet corn (*Zea mays* L.) ears as response to soil moisture tension and phosphate fertilization in Campeche, Mexico. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v.97, n.9, p.1365-1374, 2010.

ROSAS, S. B. et al. Root colonization and growth promotion of wheat and maize by *Pseudomonas aurantiaca* SR1. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.41, n.9, p.1802-1806, 2009.

SANGOI, L.; SALVADOR, R. Dry matter production and partitioning of maize hybrids and dwarf unes at four plant populations. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.1, p.1-6, 1997.

SARKER, B. C.; KARMOKER, J. L.; RASHID, P. Effects of phosphorus deficiency on anatomical structures in maize (*Zea mays* L.). **Bangladesh Journal of Botany**, Dhaka, v.39, n.1, p.57-60, 2010.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Adubação fosfatada em solos da região do cerrado**. Potafós - Piracicaba-SP, n.102, 2003, 16p. (Encarte Técnico – Informações Agronômicas)

TANG, X. et al. Phosphorus efficiency in long-term (15 years) wheat-maize cropping systems with various soil and climate conditions. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.108, n.3, p.231-237, 2008.

VYAS, P.; GULATI, A. Organic acid production *in vitro* and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent *Pseudomonas*. **BMC Microbiology**, 2009. Artigo online: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/174>

4 ARTIGO B – FONTES DE P ASSOCIADAS À INOCULAÇÃO DE RIZOBACTÉRIAS DO GÊNERO *Pseudomonas* NO DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO

RESUMO

A utilização de fosfatos naturais associados à fosfatos solúveis, assim como a inoculação de rizobactérias podem ser alternativas para melhorar a disponibilização de P às plantas. Assim, 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: altura de plantas (AP), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF), concentração de P na MSPA (CP), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST), teor de P acumulado na MSPA (PA), relação raiz/parte aérea (MSR/MSPA) e eficiência agrônômica relativa (EAR). 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 AP, DC, AF, MSPA, MSR, MST, PA e EAR 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. A EAR das fontes de Gafsa, Itafós, SFT+Gafsa e SFT+Itafós foram 38, 2, 93 e 87% para MSPA, 34, 1, 91 e 83% para MST e 50, 2, 94 e 83% para PA, respectivamente, em relação ao SFT. 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, eficiência agrônômica.

ABSTRACT

The use of natural phosphates associated with soluble phosphates, as well as the inoculation of rhizobacteria can be options to improve the availability of P for plants. Thus, the study aimed to evaluate the effect of soluble and natural phosphates associated with the inoculation of rhizobacteria *Pseudomonads* via seeds, in the development of corn plants. The experiment was conducted in a greenhouse in 6x3 factorial randomized block design with four replications. Were applied 50 mg kg⁻¹ P in the soil through five sources: triple superphosphate (SFT), Gafsa rock phosphate, Itafos rock phosphate, SFT+Gafsa and SFT+Itafós (both mixtures in the proportion 1:1), and a control treatment (no P), associated with three inoculation levels: no inoculation, strain A (*Burkholderia pickettii* GN 2214) and strain B (*Pseudomonas* sp. Fluorescent group P21). On the occasion of male flowering (60 DAE) were analyzed the following characteristics: plant height (AP), stem diameter (DC), leaf area (AF), P content in MSPA (CP), shoots dry weight (MSPA), root dry weight (MSR), total dry weight (MST), the P accumulated in MSPA (PA), root/shoot (MSR/MSPA) and relative agronomic effectiveness (EAR). The plants had the highest growth and developments in the application of SFT. The combination of SFT+Gafsa and SFT+Itafos provided greater development for AP, DC, AF, MSPA, MSR, MST, PA and EAR compared to rock phosphate applied alone. The control had the highest ratio MSR/MSPA. Strains P21 and 2214 GN promote biomass of maize plants. EAR sources of Gafsa, Itafós, SFT+Gafsa and SFT+Itafós were 38, 2, 93 and 87% for MSPA, 34, 1, 91 and 83 for MST, and 50%, 2, 94 and 83% for PA, respectively, compared to the SFT. Combinations of soluble and natural phosphates constitute a new option for the correction to the phosphorus agricultural production systems.

Keywords: *Zea mays* L., phosphate, promoting growth, shoot dry matter, agronomic efficiency.

4.1 INTRODUÇÃO

No solo, o P está dividido entre compostos orgânicos e inorgânicos, e uma fração mínima encontra-se dissolvida na solução (GOEDERT; LOBATO, 1980). A deficiência de P prejudica a formação da biomassa vegetal (MOLLIER; PELLERIN, 1999), limitando a absorção da radiação fotossintética pela planta (COLOMB; KINIRY; DEBAEKE, 2000). A redução do fluxo de P é relacionada à idade da planta, e está atribuído à redução no requerimento de P por unidade de raiz. Se há pouca raiz, o fluxo deve ser mais eficiente (BARBER, 1984). 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; SCHUMACHER, 1994).

Dentre as opções de fonte de P no mercado, os fertilizantes fosfatados totalmente acidulados (superfosfatos e amoniados) ocupam posição de destaque (PROCHNOW; ALCARDE; CHIEN, 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; LARA-CABEZAS; HOROWITZ, 1999).

Assim, os fosfatos de rocha são alternativas para serem utilizados como fertilizante, pois pode ser aplicados de forma direta (com ou sem alterações pela acidulação por H_3PO_4), são naturais e ambientalmente limpos e, podem ser mais eficientes que os fertilizantes solúveis a longo prazo (RAJAN; WATKINSON; SINCLAIR, 1996).

Os fosfatos naturais de origem sedimentar têm sido amplamente estudados nos últimos anos, em decorrência do aumento da oferta no mercado brasileiro (HOROWITZ; MEURER, 2004). Os fosfatos naturais podem ser reativos ou não, dependendo do grau de substituição isomórfica (KLIEMANN; 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; MEURER, 2004). O fosfato Itafós, uma nova fonte de P no mercado, é um fertilizante de origem sedimentar não reativo (BRASIL, 2007). Estes

fertilizantes naturais poderão ser uma opção para a redução de custos nos cultivos agrícolas, dependendo do cultivo, do preço e do teor total de P_2O_5 , além do residual, visando efeitos semelhantes aos fosfatos acidulados (GOEDERT; LOBATO, 1980).

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; HAMMOND, 1978). De acordo com a Legislação, as exigências mínimas para um fosfato ser reativo são as seguintes: 27% de P_2O_5 total, mínimo de 30% do teor total solúvel em ácido cítrico a 2% na relação 1:100, ou mínimo de 55% do teor total solúvel em Ácido Fórmico a 2% (BRASIL, 2007).

As misturas de fontes de P, utilizando fosfatos naturais com solúveis constituem uma prática viável de fornecimento deste elemento (CHIEN et al., 1987; PIAIA et al., 2002; FRANZINI; MURAOKA; MENDES, 2009). Nestas combinações, a eficiência destes fosfatos é elevada devido à concentração de P solúvel presente nos fosfatos acidulados, gerando maior potencial em disponibilizar o P do solo às plantas (GOEDERT; LOBATO, 1980). A eficiência agronômica relativa (EAR) dos fosfatos de rocha é dependente de fatores como: pH, textura e outras propriedades do solo (teor Ca trocável e de matéria orgânica, capacidade de adsorção de P), fonte de P utilizada, tamanho das partículas do fertilizante e tempo de reação no solo, que envolvem clima e cultura (BARNES; KAMPRATH, 1975; CHIEN; MENON, 1995). Para as doses de 100 e 200 kg ha⁻¹ de P_2O_5 , o fosfato de Gafsa atingiu uma EAR de 92 e 103%, respectivamente, atingindo uma média de 97% de equivalência das duas doses no primeiro cultivo (KORNDÖRFER; LARA-CABEZAS; HOROWITZ, 1999)

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; HARTEL, 2000), efeito no qual as *Pseudomonas*

fluorescens são conhecidas como RPCPs altamente competitivas (MISKO; GERMIDA, 2002). Vários autores registraram aumentos de massa seca de milho utilizando as RPCPs (CHABOT; ANTOUN; CESCAS, 1996; CHABOT et al. 1998; BIARI; GHOLAMI; RAHMANI 2008; VYAS; GULATI, 2009). 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*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido sob condições controladas de casa de vegetação, na Embrapa Soja, Distrito de Warta, localizada à 23°11'37" S e 51°11'03" W, 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).

A concentração de P₂O₅ total e solubilidades em H₂O, citrato neutro de amônio + H₂O (CNA+ H₂O) e ácido cítrico a 2% (A.C.) das fontes de P utilizadas são apresentados na Tabela 4.1. Para fins de cálculo, utilizou-se o teor de P total das fontes.

Tabela 4.1. Concentração de P_2O_5 total, solubilidades de P_2O_5 das fontes de P utilizadas em ácido cítrico a 2% (A.C.) relação 1:100, em citrato neutro de amônio + H_2O (CNA+ H_2O) e em H_2O .

FONTE	TOTAL	H_2O	CNA+ H_2O	A.C.
	----- % P_2O_5 -----			
SFT	45,00	37,00	41,00	40,40
GAFSA	29,58	0	6,51	10,00
ITAFÓS	23,17	0	-	5,50

Fonte: Prochnow, Alcarde e Chien (2004).

O solo utilizado foi coletado no município de Ponta Grossa-PR, sendo o mesmo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo (EMBRAPA, 2006). Antes da aplicação dos tratamentos, realizou-se uma amostra composta para a caracterização química e física do solo, cujos resultados são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Características químicas e físicas do solo da área experimental na profundidade 0-20 cm.

pH	CaCl ₂	Areia	Silte	Argila	Ca ⁺²	Mg ⁺²	K ⁺	Al ⁺³	H+Al	V%	P*	C
		----- g kg ⁻¹ -----			----- cmol _c dm ⁻³ -----						mg dm ⁻³	g dm ⁻³
4,44		552,0	77,5	370,5	1,9	1,2	0,10	0,40	3,51	47,69	0,68	59,49

*Mehlich-1

Com base nos resultados da análise química a correção do solo foi realizada com calcário dolomítico utilizando o método da saturação por bases. A quantidade de água aplicada para a reação do calcário foi determinada pelo cálculo para manter a umidade do solo na capacidade de campo. O solo permaneceu encubado, sob proteção de lona plástica durante 15 dias.

Após a reação do calcário, o solo foi levado à caldeira, para descontaminação, pela eliminação do excesso de microrganismos presentes neste meio. A caldeira é um equipamento que por meio de ar quente (encaminhado por tubulação), atinge temperaturas de até 100°C, utilizando lenha como combustível. Uma lona é adaptada neste cano, criando-se um ambiente fechado, sendo o solo aquecido homoganeamente. Este processo envolveu o transporte do solo, a adaptação da lona ao tubo, o aquecimento e o resfriamento do ar presente neste meio. O solo ficou sob temperaturas de até 100°C por pelo menos três horas.

Após a descontaminação, o solo foi destinado à estufa para secagem. O interior da estufa foi higienizado utilizando pano úmido com água e desinfetante (formol a 37%, dodecilbenzeno sulfonato de sódio a 12%) para a eliminação de microorganismos. Após a limpeza, o solo foi disposto em bandejas de aço, a qual permaneceu na estufa por cinco dias, à 65°C.

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.

Assim, os tubos foram dispostos sobre quatro bancadas, conforme o bloco de cada tratamento, em casa de vegetação com controle de temperatura entre 21 e 29°C.

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, que apresenta ciclo precoce, grão duro de cor alaranjada, com excelente sanidade foliar e produtividade de grãos (SEMENTES BALU, 2011).

No dia 09/06/2010, foram semeadas em cada vaso seis sementes de milho (não tratadas com fungicidas e inseticidas), com emergência das plântulas aos quatro dias após a semeadura (DAS). Uma semana após a emergência foi realizado o desbaste, deixando duas plantas por vaso. O segundo desbaste foi realizado aos 15 DAE, deixando uma planta por vaso. Aos 16 DAE aplicou-se uma

solução de micronutrientes composta por $\text{MnSO}_4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4(7\text{H}_2\text{O})$, $\text{CuSO}_4(5\text{H}_2\text{O})$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}(4\text{H}_2\text{O})$, H_3BO_3 e FeSO_4 , nas doses 10, 10, 5, 1, 0,5 e 10 mg kg^{-1} , respectivamente. A adubação de cobertura foi realizada no estágio V_4 com aplicação de 25 mg kg^{-1} de N e de K, nas formas de ureia e de cloreto de potássio, respectivamente.

Por ocasião do florescimento masculino (50%) aos 60 dias após emergência (DAE), realizou-se a avaliação das seguintes variáveis:

Altura da planta (**AP**): mediu-se da distância do colo da planta à inserção da última folha exposta. Diâmetro do colmo (**DC**): foi medido no primeiro entrenó acima do solo no sentido de disposição das folhas com o auxílio de um paquímetro manual. Área do limbo foliar (**AF**): foi determinada utilizando o medidor de área foliar, Li-Cor, modelo LI-3100, com resultados expressos em cm^2 . 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. Após, as plantas foram pesadas em balança semi-analítica, com os resultados expressos em g vaso^{-1} . Concentração de P na parte aérea (**CP**): Após a pesagem, a parte aérea total, correspondentes a cada vaso, foi triturada em moinho tipo Willey, e posteriormente armazenadas em frasco de vidro subsequente à digestão nitroperclórica e dosagem colorimétrica (Metavanadato). A análise química para a determinação do P foi realizada conforme descrito em Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

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**). A partir da multiplicação de CP por MSPA, obteve-se o conteúdo de P acumulado na MSPA (**PA**).

A eficiência agrônômica relativa (**EAR**) foi calculada pela seguinte fórmula:

$$EAR (\%) = \frac{Y_{\text{tratamento}_i} - Y_{\text{controle}}}{Y_{\text{tratamentopadrão}} - Y_{\text{controle}}}$$

Onde:

$Y_{\text{tratamento}_i}$: é a resposta média obtida com a aplicação da fonte i;

$Y_{\text{tratamento padrão}}$: é a resposta média obtida da fonte padrão sem inoculação (SFT) =100%;

Y_{controle} : é a resposta média obtida do controle sem inoculação (sem P) =0%;

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os desdobramentos das interações foram realizados independentemente da significância na ANAVA.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo de fontes de P para as variáveis de altura de plantas (AP), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF) e teor de P acumulado (PA) (Tabela 4.3). A inoculação de bactérias do gênero *Pseudomonas* nas sementes alterou significativamente a variável DC. Para concentração de P na MSPA (CP) houve interação entre os fatores avaliados. Apesar da interação entre as fontes de P e os níveis de inoculação, a AP e a AF foram desdobrados, e são apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.3. Dados médios de altura de planta (AP), diâmetro do colmo (DC), área foliar (AF), concentração do P na MSPA (CP) e teor de P acumulado (PA) em plantas de milho em função de diferentes fontes de P e níveis de inoculação com bactérias do gênero *Pseudomonas*.

CAUSA DE VARIAÇÃO	AP	DC	AF	CP	PA
FONTES DE P	----- cm -----		cm ²	g kg ⁻¹	mg vaso ⁻¹
CONTROLE (sem P)	40,91	0,48 C	73,58	0,73	0,36 D
SFT	140,38	1,79 A	4342,33	0,52	32,78 A
GAFSA	88,63	1,24 B	3140,33	0,69	16,72 C
ITAFOS	48,62	0,54 C	280,17	0,61	0,89 D
SFT+GAFSA	139,06	1,76 A	4383,83	0,52	30,86 AB
SFT+ITAFÓS	136,90	1,68 A	3966,08	0,50	27,20 B
NÍVEIS DE INOCULAÇÃO					
Sem inoculante	97,88	1,28 ab	2610,83	0,64	18,00
GN 2214	98,04	1,33 a	2761,58	0,57	17,73
P21	101,32	1,13 b	2720,75	0,57	18,67
VALOR DE F					
Fonte	110,85*	67,98*	225,01*	6,38*	175,68*
Inoculante	0,39 ^{ns}	4,26*	0,68 ^{ns}	2,19 ^{ns}	0,39 ^{ns}
Fonte X Inoculante	0,90 ^{ns}	1,13 ^{ns}	1,27 ^{ns}	3,33*	1,04 ^{ns}
CV(%)	15,41	20,44	17,16	22,79	21,12

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

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

As fontes naturais de fosfato e a ausência de adubação fosfatada resultaram em menor DC, demonstrando que a disponibilidade de P é de fundamental importância para o crescimento, resultando na redução desta estrutura

nas plantas de milho, se não supridas por este elemento. Sarker, Karmoker e Rashid (2010), também afirmam que a deficiência de P prejudica a formação do colmo em plantas de milho, resultando em diâmetros menores. Rivera-Hernández et al. (2009), relatam que a deficiência de P afeta o DC e a produção de MSPA em maiores proporções do que outras variáveis.

O SFT isolado apresentou maior P acumulado na MSPA das plantas em relação aos demais tratamentos, com exceção do SFT+Gafsa. As misturas de fosfato solúvel com os naturais foram superiores à aplicação das fontes naturais isoladas. O fosfato de Gafsa resultou em maior PA que o Itafós e controle. Asmah (1995), também observaram que a absorção de P aumentou com a aplicação de SFT e fosfato de Gafsa em relação ao controle. Sharif e Jan (2008) relataram aumentos no P acumulado em função da aplicação de SFS e um fosfato de rocha, sendo superiores ao controle. Os resultados obtidos confirmam as afirmações de Klepker (1996) de que a maior disponibilidade de P no solo proporciona maior absorção do nutriente.

Em relação à inoculação com as bactérias do gênero *Pseudomonas*, a estirpe GN 2214 proporcionou maior DC que o isolado P21, entretanto, não diferiu do controle ($p < 0,05$) (Tabela 4.3). As demais características não foram influenciadas pela inoculação com as rizobactérias. Asghar, Zahir e Arshad (2004), utilizando isolados rizobacterianos selecionados como promotores de crescimento observaram aumentos no DC de plantas de canola. Ekin (2010) relatou aumentos no DC de girassol inoculando o isolado *Bacillus* M-13, ambos em relação ao controle. Dastager, Kumaran e Pandey (2010), observaram aumentos no colmo de feijão caupi inoculando *Exiguobacterium marinum*. Estes trabalhos evidenciam o potencial das rizobactérias em promover o diâmetro do colmo de plantas. Estas promoções de crescimento são atribuídas à intensa produção de hormônios vegetais ou reguladores do crescimento vegetal pela população microbiana (CATTELAN; HARTEL, 2000) por meio da excreção de ácidos orgânicos e colonização rizosférica (BOLAN et al., 1997). Contudo, os benefícios fornecidos pelas rizobactérias promotoras de crescimento variam conforme a condição do meio ambiente, da planta e do solo em que ela se encontra (ŞAHIN; ÇAKMAKÇI; KANTAR, 2004).

Na Tabela 4.4 é apresentado o desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação para AP e AF.

Tabela 4.4. Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* para altura de plantas (AP) e área foliar (AF).

FONTES DE P	AP			AF		
	SEM	GN 2214	P21	SEM	GN 2214	P21
CONTROLE	40,73 aC	40,50 aC	41,50 aC	64,25 aC	73,00 aC	83,50 aB
SFT	138,23 aA	141,50 aA	141,40 aA	4378,25 aA	4225,50 aA	4423,00 aA
GAFSA	74,20 bB	88,60 abB	103,08 aB	2714,25 bB	3115,50 abB	3591,25 aA
ITAFOS	48,60 aBC	48,05 aC	49,20 aC	192,00 aC	305,50 aC	343,00 aB
SFT+GAFSA	148,80 aA	133,80 aA	134,58 aAB	4408,50 aA	4458,50 aA	4284,50 aA
SFT+ITAFÓS	136,73 aA	135,78 aA	138,19 aA	3907,25 abA	4391,75 bA	3599,25 aA

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

SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós diferiram significativamente das demais fontes, assim como, o fosfato de Gafsa apresentou superioridade em relação ao fosfato Itafós e controle, nos três níveis de inoculação para AP. Corroborando com estes resultados, Amanullah et al. (2009), também verificaram efeitos significativos de fontes solúveis de P na AP de milho, apresentando a importância do P para o crescimento das plantas. Kumaresn, Shanmugasundaram e Balasubramanian (2001), também observaram incrementos na AP de milho com a aplicação de 75% da dose recomendada para Superfosfato Simples (SFS), concordando com os resultados obtidos com a utilização de 50% da dose de SFT associadas aos fosfatos naturais.

A inoculação de P21 proporcionou 39,0% de incremento para AP em relação à não inoculação, na fonte fosfato natural de Gafsa. A inoculação da estirpe GN 2214 nas sementes não diferiu da não inoculação para esta fonte. Nas demais fontes não houve efeitos significativos para os níveis de inoculação para AP.

Estes aumentos na AP estão correlacionados com a produção de hormônios e ácidos orgânicos que ocorrem devido à colonização destes microrganismos na rizosfera (BOLAN et al., 1997; CHABOT et al., 1998; CATTELAN; HARTEL, 2000).

Observaram-se efeitos semelhantes na AF das plantas como uso do SFT isolado ou em misturas com os fosfatos naturais, sendo os valores destes tratamentos maiores que a dos demais tanto para a não inoculação quanto à inoculação da estirpe GN 2214. Na inoculação com a estirpe P21, o fosfato de Gafsa apresentou semelhança ao SFT isolado ou combinado com fosfatos naturais, sendo

diferentes às demais fontes. A AF resultante da aplicação isolada do fosfato de Gafsa foi maior do que a verificada para o Itafós, fato esse provavelmente relacionado à reatividade da fonte de fosfato natural. Plénet et al. (2000) e Plénet, Mollier e Pellerin (2000), mostraram que a deficiência de P reduz drasticamente o índice de AF, principalmente nas primeiras fases do ciclo da gramínea. Fletcher, Moot e Stone (2006), afirmaram que a deficiência de P no solo prejudica a emergência, expansão e duração das folhas, reduzindo o índice de AF e a interceptação da radiação solar, justificando a superioridade das fontes contendo SFT para essa característica. O P é de fundamental importância no início do desenvolvimento das plantas, sendo essencial na formação dos tecidos, com consequente expressão no índice de AF (HAJABBASI; SCHUMACHER, 1994).

A presença da rizobactéria P21 nas sementes de milho proporcionou 32,3% de incrementos na AF em relação à não inoculação, no fosfato de Gafsa. A inoculação da estirpe GN 2214 não foi diferente da não inoculação para esta fonte. Nas demais fontes não houve efeitos significativos para os níveis de inoculação com rizobactérias do gênero *Pseudomonas*. Estes aumentos podem estar associados à colonização da *P. fluorescens* na rizosfera das plantas de milho (CHABOT et al., 1998), a qual por meio da produção de metabólitos promoveram o crescimento da AF das plantas de milho (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000). Este resultado evidencia o mecanismo de ação da rizobactéria, buscando maior absorção de P pela planta.

O fosfato natural de Gafsa foi a única fonte a apresentar efeitos nos níveis de inoculação para AP e AF (Tabela 4.4). Estes resultados podem ter ocorrido devido à maior possibilidade de solubilização do P e promoção do crescimento das plantas pelas rizobactérias nestas variáveis, correlacionado com o alto grau de substituições isomórficas que ocorrem na gênese da rocha deste fosfato reativo. Estas reações que ocorrem na estrutura cristalina do fosfato liberam PO_4^- no solo, havendo estímulo para a liberação de prótons na rizosfera pelas raízes, com consequente dissolução da rocha e promoção das plantas por meio de hormônios vegetais (CATTELAN; HARTEL, 2000).

Na Tabela 4.5 é apresentado o desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação para CP.

Tabela 4.5. Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* para concentração de P na MSPA (CP).

FONTES DE P	CP		
	SEM	GN 2214	P21
CONTROLE	1,02 aA	0,49 bA	0,68 bA
SFT	0,58 aB	0,49 aA	0,50 aA
GAFSA	0,71 aB	0,69 aA	0,67 aA
ITAFOS	0,51 aB	0,69 aA	0,62 aA
SFT+GAFSA	0,51 aB	0,53 aA	0,51 aA
SFT+ITAFÓS	0,52 aB	0,52 aA	0,46 aA

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

Para CP (Tabela 4.5.), houve diferença entre as fontes de P aplicadas quando na ausência de inoculação sendo o controle superior em relação às demais fontes. Com a inoculação de P21 e GN 2214 não houve diferenças entre as fontes fosfatadas. Na ausência da adubação fosfatada, a não inoculação proporcionou maior CP na MSPA em relação às inoculações com rizobactérias. Em média, a concentração de P na parte aérea das plantas variou entre 0,5 e 1,0 g kg⁻¹ (Tabela 4.4). Bertrand et al. (1999), também relataram baixos teores de P (0,9 g kg⁻¹) na MSPA do milho quando na ausência da adubação fosfatada. Segundo Klepker (1996), o teor de P acumulado parece ser um índice mais apropriado para indicar o estado nutricional da planta visto que na concentração de P na MSPA o maior valor encontrado foi para o controle, onde houve menor MSPA e maior concentração de P (sem adição de P ao solo). Sob severa deficiência, pode haver um decréscimo a concentração do nutriente com as primeiras aplicações de nutrientes, devido ao estímulo do crescimento e subsequente diluição do nutriente pela formação de material orgânico, também denominado efeito de diluição ou efeito de Steembjerg (BATAGLIA; SANTOS, 2001) (Apêndice C.1).

Assim, em média para as quatro variáveis relacionadas ao crescimento do milho (Tabela 4.3), a aplicação isolada do fosfato de Gafsa apresentou melhores resultados que o fosfato Itafós na mesma condição de aplicação, o que é esperado devido a maior reatividade do Gafsa. As fontes naturais associadas ao SFT apresentaram valores superiores em relação aos fosfatos naturais isolados (Tabela 4.3). Por outro lado, não foi observado diferença entre a fonte solúvel isolada em relação às misturas com as fontes naturais. Esses

resultados indicam que a associação de fontes solúveis com naturais de P pode ser uma prática viável para incrementar o crescimento e desenvolvimento do milho em relação às fontes marginais de P isoladas.

As variáveis massa seca de parte aérea (MSPA), de raiz (MSR), e total (MST), bem como a relação MSR/MSPA foram significativamente influenciadas pelas fontes de P ($p < 0,01$). Entretanto, não houve efeito significativo de inoculação com as RPCPs, nem da interação entre os dois fatores para essas características (Tabela 4.6). Apesar de não ter ocorrido a interação entre as fontes de P e os níveis de inoculação, os dados de MSPA, MSR e MST são desdobrados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6. Dados médios de massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa seca total (MST) e 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	MSPA	MSR	MST	MSR/MSPA
FONTES DE P	----- g vaso ⁻¹ -----			g g ⁻¹
CONTROLE (sem P)	0,57	0,60	1,16	1,34 A
SFT	64,22	23,15	87,37	0,36 B
GAFSA	25,06	5,58	30,63	0,20 B
ITAFOS	1,53	0,57	2,09	0,43 B
SFT+GAFSA	59,99	19,70	79,79	0,35 B
SFT+ITAFÓS	55,66	17,64	73,29	0,32 B
NÍVEIS DE INOCULAÇÃO				
Sem inoculante	32,99	10,37	43,36	0,54
GN 2214	33,55	12,33	45,88	0,52
P21	36,97	10,96	47,93	0,44
VALOR DE F				
Fonte	142,17*	68,86*	149,73*	12,39*
Inoculante	1,53 ^{ns}	1,35 ^{ns}	1,01 ^{ns}	0,35 ^{ns}
Fonte X Inoculante	1,21 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,87 ^{ns}	0,16 ^{ns}
CV(%)	24,72	37,77	24,41	82,56

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

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

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; 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; PELLERIN, 1999). A alta relação MSR/MSPA observada em plantas de milho deficientes de P foi associada com maiores concentrações de açúcares e proporções de carboidratos sendo fracionados para as raízes (KHAMIS et al., 1990). Alloush e Clark (2001) observaram efeito significativo na relação parte aérea/raiz utilizando um fosfato natural da Síria (Ain Lylon) e micorrizas inoculadas no milho, em relação ao controle. Sob o tratamento de P-deficiente, Gaume et al. (2001) e Liu et al. (2004) observaram que o crescimento radicular respondeu antes à deficiência fosfatada do que as perdas da parte aérea.

Na Tabela 4.7 é apresentado o desdobramento envolvendo os níveis de inoculação para as variáveis MSPA, MSR e MST.

Tabela 4.7. 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 $p < 0,05$.

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. 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).

Corroborando com os resultados obtidos, vários autores também relataram maior MSPA de plantas de milho utilizando fosfatos solúveis em relação à aplicação isolada de fosfatos naturais, como o Arad (ERNANI; STECKLING; BAYER, 2001; BATISTA et al. 2009), Carolina do Norte (CHIEN et al., 1987; ERNANI; BARBER, 1991) e o Gafsa (CORRÊA et al. 2005; FRANZINI et al., 2009). Por outro lado, apesar da melhor resposta dos fosfatos solúveis, deve-se considerar que o efeito residual das fontes de menor solubilidade pode com o tempo compensar a indisponibilidade deste elemento em relação aos primeiros cultivos, sendo proporcional ao ganho inicial das fontes solúveis (KAMINSKI; PERUZZO, 1997).

A inoculação de P21 aumentou 28,2% a MSPA de plantas de milho em relação ao SFT não inoculado (Tabela 4.7). 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, Gholami e Rahmani (2008), observaram aumentos de 63 a 115% em relação ao controle, utilizando RPCPs. Chabot, Antoun e Cescas (1996), obtiveram aumentos na MSPA inoculando *Pseudomonas* com a metade da dose de P ha⁻¹ recomendada. Vyas e Gulati (2009) registraram sete isolados de *Pseudomonas* com maiores rendimentos de MSPA, em relação ao controle. O maior valor encontrado para MSPA foi com a estirpe *Pseudomonas* BIHB 813 combinada com NPK, sendo o fosfato tricálcico a fonte de P. Estes trabalhos comprovam o potencial que as RPCPs possuem em promover a MSPA em plantas de milho, assim como observado neste estudo quando utilizado o SFT isolado.

Tanto na MSR, como no MST, as fontes SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós foram superiores às demais fontes. Entretanto, o SFT aplicado

individualmente foi superior à mistura SFT+Itafós. Alguns autores relataram aumentos na MSR aplicando fosfato solúvel (ERNANI; BARBER, 1991; KLEPKER, 1996; SHARIF; JAN, 2008; VYAS; GULATI, 2009) e fosfato natural (ALLOUSH; 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 4.6).

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.

Assim, para a MST, proporcionalmente houve maior influência da MSPA fazendo com que a resposta para a inoculação com a P21 fosse 27,6% superior ao controle. Para as variáveis PA e MSR/MSPA, os níveis de inoculação foram estatisticamente iguais (Tabela 4.6). Portanto, é importante ressaltar a existência da variação conforme a condição ambiental nos benefícios das RPCPs (ŞAHIN; ÇAKMAKÇI; KANTAR, 2004).

Na Figura 4.1, são apresentados os dados da eficiência agrônômica relativa (EAR) dos tratamentos, calculada com base nas respostas das plantas quanto à produção de MSPA, MST e PA, sendo o SFT, a fonte padrão (100%).

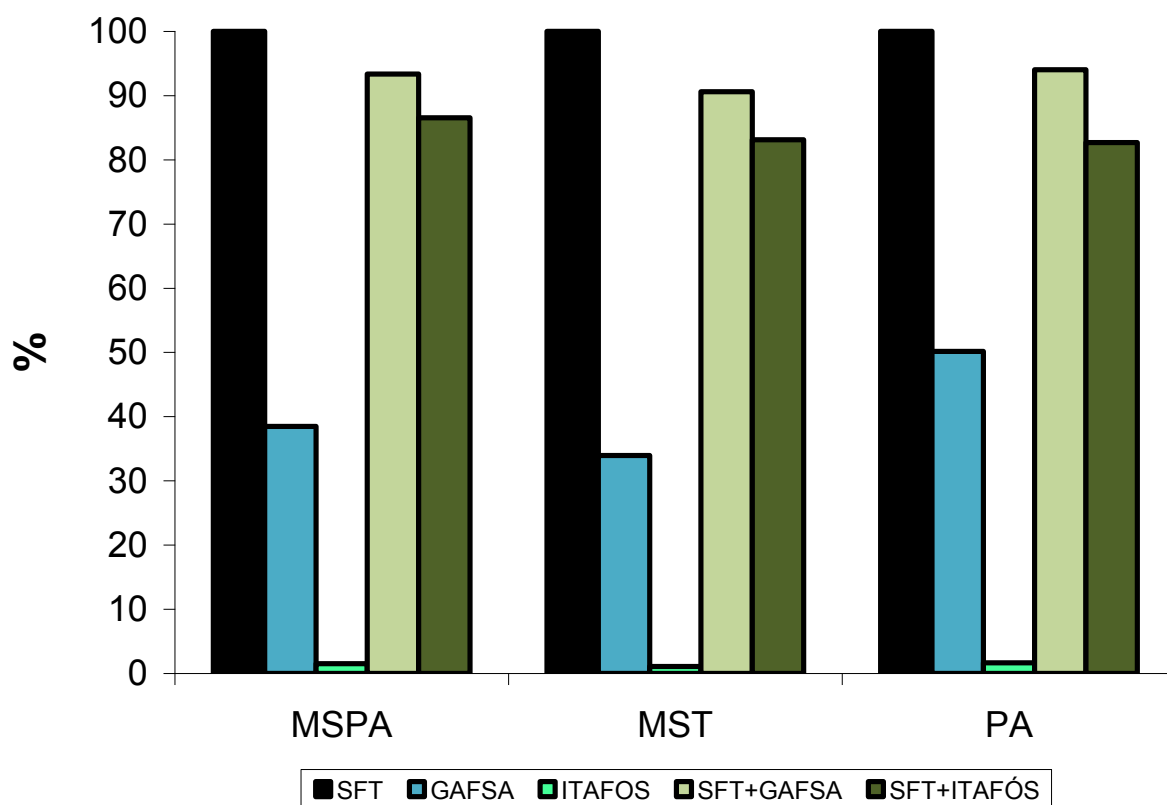


Figura 4.1. Eficiência Agrônômica Relativa (EAR) para massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca total (MST) e teor de P acumulado na planta (PA).

O fosfato de Gafsa foi superior ao fosfato Itafós, produzindo 38, 34 e 50% de EAR para MSPA, MST e PA, respectivamente. O fosfato Itafós possui baixa reatividade, portanto necessita de mais tempo para disponibilizar o P para a solução do solo, assim apresentou 2, 1 e 2% de EAR, respectivamente.

As combinações de SFT+Gafsa e SFT+Itafós proporcionaram aumentos consideráveis em relação ao Gafsa e ao Itafós isolados. Isto é devido a estas combinações na proporção de 25:25 mg dm⁻³, equivalerem à metade da fração solúvel utilizada na fonte padrão. SFT+Gafsa apresentou 93, 91 e 94%, e SFT+Itafós produziu 87, 83 e 83%, de EAR para MSPA, MST e PA, respectivamente.

O fosfato de Gafsa, devido ao seu alto grau de substituições isomórficas (CHIEN; MENON, 1995) apresentou resultado intermediário, sendo superior ao controle e Itafós, e inferior ao SFT e as combinações do P solúvel com os fosfatos naturais. Considerando a baixa disponibilidade de P no solo, esta fonte apresentou EAR intermediária em relação à fonte padrão, e pode resultar em maior valores de EAR em cultivos com maior valor residual, conforme verificado por

Khasawneh e Doll (1978), Chien et al. (1987), Kaminski e Peruzzo (1997), Korndörfer, Lara-Cabezas e Horowitz (1999), Sousa e Lobato (2003) e Horowitz e Meurer (2004).

Chien et al. (1987), avaliando o fosfato Carolina do Norte em relação ao SFT em casa de vegetação, relataram que a EAR da mistura entre esses dois fosfatos foi maior em relação às aplicações isoladas, discordando dos resultados obtidos com a utilização das misturas de Gafsa e Itafós em relação ao SFT. Estes autores sugeriram que houve um efeito sinérgico na combinação. Isto ocorre devido ao favorecimento da utilização da fração solúvel pelas plantas, que proporcionam menores perdas com o fertilizante. Há também a menor eficiência agrônômica da fração não-solúvel, quando se reduz o contato entre o solo e o fertilizante (KHASAWNEH; DOLL, 1978).

O suprimento de P solúvel às plantas é uma prática que tem sido relatada para promover o uso de fosfatos de rocha de baixa reatividade nos sistemas agrícolas (PROCHNOW et al., 2004). Esta afirmação está de acordo com os resultados obtidos, uma vez que os fosfatos Itafós e Gafsa produziram 1 e 34% quando isolados, e 83 e 91% de EAR, respectivamente, quando combinados com o SFT, para MST.

O SFT isolado ou associado aos naturais foi superior às demais fontes avaliadas na maioria das variáveis, demonstrando que o fosfato solúvel favoreceu o desenvolvimento das plantas de milho. Esse resultado deve-se à capacidade imediata de disponibilizar o P em condições limitantes de P, em relação aos fosfatos naturais, que liberam o P a longo prazo, não suprimindo a demanda inicial para o adequado desenvolvimento das plantas de milho.

O fosfato de Gafsa apresentou melhores resultados que o Itafós em várias características avaliadas (AP, DC, AF, MSPA, MST e PA), refletindo o que representa a reatividade de um fosfato natural, em relação a um não reativo (KHASAWNEH; DOLL, 1978; CHIEN et al., 1987; KAMINSKI; PERUZZO, 1997; HOROWITZ; MEURER, 2004).

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.

As combinações SFT+Gafsa e SFT+Itafós apresentaram altas percentagens de EAR, sendo que SFT+Gafsa proporcionou 94% para PA, e SFT+Itafós 87% de MSPA. Estes aumentos em relação à aplicação isolada da fonte natural mostram como a fração de P solúvel é importante para o requerimento imediato à planta. Há a necessidade de estudos buscando acrescentar a fração do P solúvel de fontes alternativas, visando o aumento da EAR.

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.

4.4 CONCLUSÃO

O fosfato solúvel, isolado ou em mistura com os naturais, favoreceu o desenvolvimento das plantas de milho.

Os fosfatos Gafsa e Itafós associados com o SFT incrementaram o crescimento e desenvolvimento do milho (AP, DC, AF, MSPA, MSR, MST, PA e EAR) em relação às aplicações isoladas destes fosfatos naturais.

As estirpes P21 e GN 2214 possuem a capacidade em promover a biomassa de plantas de milho.

O teor de P acumulado (PA) mostrou ser um bom indicativo para representar o estado nutricional de P nas plantas de milho.

A maior relação MSR/MSPA está relacionada com a deficiência de P no meio.

4.5 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.

AMANULLAH et al. Effects of phosphorus fertilizer source and plant density on growth and yield of maize in Northwestern Pakistan. **Journal of Plant Nutrition**, London, v.32, n.12, p.2080-2093, 2009.

ASGHAR, H. N.; ZAHIR, Z. A.; ARSHAD, M. Screening rhizobacteria for improving the growth, yield, and oil content of canola (*Brassica napus* L.). **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v.55, n.2, p.187-194, 2004.

ASMAH, A. E. Effect of phosphorus source and rate of application on VAM fungal infection and growth of maize (*Zea-mays* L). **Mycorrhiza**, New York, v.5, n.3, p.223-228, 1995.

BARBER, S. A. **Soil nutrient bioavailability – a mechanistic approach**. New York: Wiley-Interscience. 1984. 398p.

BARNES, J.S.; KAMPRATH, E.J. **Availability of North Carolina rock phosphate applied to soils**. Raleigh: North Carolina State University, 1975. 23p. (Agricultural Experiment Station. Technical bulletin, 229).

BATAGLIA, O. C.; SANTOS, W. R. Estado nutricional de plantas perenes: avaliação e monitoramento. In: HARRIS, G. **Deficiência de potássio em algodoeiro relacionada à mancha foliar**. Piracicaba, 2001. p.3-8. (Informações Agronômicas, Nº 96).

BATISTA, M. A. et al. Mineral composition and dry mass production of the corn plants in response to phosphorus sources and aluminum concentration. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.52, n.3, p.541-548, 2009

BERTRAND, I. et al. Dynamics of phosphorus in the rhizosphere of maize and rape grown on synthetic, phosphated calcite and goethite. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.211, p.111-119, 1999.

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.

CHABOT, R.; ANTOUN, H.; CESCAS, M. P. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.184, n.2, p.311-321, 1996.

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.

CHIEN, S. H.; MENON, R. G. Factors affecting the agronomic effectiveness of phosphate rock for direct application. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** (Antiga Fertilizer Research), Dordrecht, v.41, p.227-234, 1995.

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.

CORRÊA, R. M. et al. B. Gafsa rock phosphate and triple superphosphate for dry matter production and P uptake by corn. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.62, n.2, p.159-164, 2005.

DASTAGER, S. G.; KUMARAN, D. C.; PANDEY, A. Characterization of plant growth-promoting rhizobacterium *Exiguobacterium* NII-0906 for its growth promotion of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Biologia**, v.65, n.2, p.197-203, 2010.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

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.

ERNANI, P. R.; STECKLING, C.; BAYER, C. Características químicas de solo e rendimento de massa seca de milho em função do método de aplicação de fosfatos, em dois níveis de acidez. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.25, p.939-946, 2001.

EKIN, Z. Performance of phosphate solubilizing bacteria for improving growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in the presence of phosphorus fertilizer. **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v.9, n.25, p.3794-3800, 2010.

FANKEM, H. et al. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated acidic soils of Cameroon. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v.2, p.171-178, 2008.

FLETCHER, A. L.; MOOT, D. J.; STONE, P. The effect of fertiliser P on crop biomass production, partitioning, and quality in "Challenger" sweet corn. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v.57, n.11, p.1213-1219, 2006.

FRANZINI, V. I. et al. Eficiência de fosfato natural reativo aplicado em misturas com superfosfato triplo em milho e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.9, 2009.

FRANZINI, V. I.; MURAOKA, T.; MENDES, F. L. Ratio and rate effects of ³²P-triple superphosphate and phosphate rock mixtures on corn growth. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.66, n.1, p.71-76, 2009.

GAUME, A. et al. Low-P tolerance by maize (*Zea mays* L.) genotypes: Significance of root growth, and organic acids and acid phosphatase root exudation. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.225, p.253-264, 2001.

GOEDERT, W. J.; LOBATO, E. Eficiência agronômica de fosfatos em solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.15, n.3, p.311-318, 1980.

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.

HARTHMANN, 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 agronômica de fosfatos naturais. In: SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA. Piracicaba, 2004. **Anais**. Piracicaba, Potafos/Anda, 2004. 665-688p.

KAMINSKI, J.; PERUZZO, G. **Eficácia de fosfatos naturais reativos em sistemas de cultivo**. Santa Maria, Núcleo Regional Sul da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. 31p. (Boletim Técnico No.3)

KHAMIS, S.; CHAILLOU, S.; LAMAZE, T. CO₂ assimilation and partitioning on carbon in maize plants deprived of orthophosphate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.41, n.233, p.1619-1625, 1990.

KHASAWNEH, F. E.; DOLL, E. C. The use of phosphate rock for direct application to soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.30, p.159-205, 1986.

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 agronômica 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 agronômica de fosfatos naturais reativos na cultura do milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.2, 1999.

KUMARESN, M. A.; SHANMUGASUNDARAM, V. S.; BALASUBRAMANIAN, T. N. Integrated phosphorus management in maize (*Zea mays* L.) sunflower (*Helianthus annuus*)-cowpea (*Vigna unguiculata*) fodder cropping system. **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v.46, n.3, p.404-409, 2001.

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.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

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.

PIAIA, F. L. et al. Eficiência da adubação fosfatada com diferentes fontes e saturações por bases na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.3, p.488-499, 2002.

PLÉNET, D. et al. Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency. I. Leaf growth. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.223, n.1-2, p.117-130, 2000.

PLÉNET, D.; MOLLIER, A.; PELLERIN, S. Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency. II. Radiation-use efficiency, biomass accumulation and yield components. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.224, n.2, p.258-272, 2000.

PROCHNOW, L. I. et al. Greenhouse evaluation of phosphorus sources produced from a low-reactive brazilian phosphate rock. **Agronomy Journal**, Madison, v.96, p.761-768, 2004.

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.

RAJAN, S. S. S.; WATKINSON, J. H.; SINCLAIR, A. G. Phosphate rocks for direct application to soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.57, p.77-158, 1996.

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.

RIVERA-HERNÁNDEZ, B. et al. Soil moisture tension and phosphate fertilization on yield components of A-7573 sweet corn (*Zea mays* L.) hybrid, in Campeche, Mexico. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v.96, n.9, p.1285-1292, 2009.

ŞAHİN, F.; ÇAKMAKÇI, R.; KANTAR, F. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.265, n.1-2, p.123-129, 2004.

SARKER, B. C.; KARMOKER, J. L.; RASHID, P. Effects of phosphorus deficiency on anatomical structures in maize (*Zea mays* L.). **Bangladesh Journal of Botany**, Dhaka, v.39, n.1, p.57-60, 2010.

SEMENTES BALU. Disponível em: <<http://www.sementesbalu.com.br/>>. Acesso em 10 fev. 2011.

SHARIF, M.; JAN, B. Growth and nutrient accumulation of maize plants as affected by the inoculation of Arbuscular Mycorrhizal fungi with rock phosphate. **Soil and Environment**, Faisalabad, v.27, n.1, p.109-115, 2008.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Adubação fosfatada em solos da região do cerrado**. Potafós - Piracicaba-SP, n.102, 2003, 16p. (Encarte Técnico – Informações Agronômicas)

VYAS, P.; GULATI, A. Organic acid production *in vitro* and plant growth promotion in maize under controlled environment by phosphate-solubilizing fluorescent *Pseudomonas*. **BMC Microbiology**, 2009. Artigo online: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/174>>

ZAGO, V.C.P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N.G. ***Pseudomonas spp. Fluorescentes*** – Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 32p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 127).

5 ARTIGO C – FONTES DE P ASSOCIADAS À RIZOBACTÉRIAS NO DESENVOLVIMENTO RADICULAR DO MILHO E NA DISPONIBILIDADE DE P NO SOLO

RESUMO

As rizobactérias podem alterar a arquitetura do sistema radicular e ainda, atuar na solubilização de fosfatos inorgânico no solo, favorecendo a nutrição e o desenvolvimento da planta. Devido à baixa disponibilidade de P na solução do solo, novas alternativas devem ser estudadas buscando à melhor eficiência da absorção e do aproveitamento deste elemento à planta. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de fosfatos solúveis e naturais associados à inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* via sementes, na disponibilidade de P no solo e no desenvolvimento radicular de plantas de milho. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em vasos com dimensões de 14,3 cm de diâmetro e 50 cm de altura, utilizando um Latossolo Vermelho-Amarelo. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 6x3, com quatro repetições. Foram aplicados 50 mg kg⁻¹ de P via solo por meio de cinco fontes: Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural Gafsa (reativo), Fosfato Natural Itafós (não reativo), SFT+Gafsa e SFT+Itafós (ambas as misturas na proporção 1:1), além do tratamento controle (sem P). Estas fontes foram associadas a três níveis de inoculação: sem inoculação, estirpe A (*Burkholderia pickettii* GN 2214) e a estirpe B (*Pseudomonas* sp. do grupo Fluorescente P21). Em quatro camadas do solo (0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm) foram avaliadas as seguintes características: área radicular (AR), diâmetro médio radicular (DR), comprimento radicular (CR), volume radicular (VR), massa seca de raiz (MSR), pH do solo (pH), teor de P no solo (PS) e pH da rizosfera (pHR). A aplicação de SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós favoreceram a AR, DR, CR, VR e MSR. A aplicação de SFT acidificou o pH do solo e da rizosfera. O SFT combinado com os fosfatos naturais proporcionaram menor PS em relação aos fosfatos naturais, devido à superestimação dos resíduos da apatita pelo extrator ácido. O fosfato de Gafsa foi superior ao Itafós para AR, DR e VR. As estirpes GN 2214 e P21 favoreceram o DR na camada 10-20 cm. A inoculação com P21 reduziu o pH do solo e, com GN 2214 o pHR. P21 apresentou maior promoção de VR para a

fonte SFT+Itafós na camada 30-40 cm. As combinações de fosfatos solúveis com os naturais proporcionam o desenvolvimento radicular devido à maior disponibilização de P à solução do solo.

Palavras-chave: *Zea mays* L., fosfato, promoção de crescimento, massa seca de raiz, pH, rizosfera.

ABSTRACT

The rhizobacteria can alter the architecture of the root system and also act in solubilization of inorganic phosphates in the soil, promoting nutrition and plant development. Due to the low availability of P in soil solution, new alternatives should be studied to try to better efficiency of uptake and use of this element to the plant. Thus, this study aimed to evaluate the effect of soluble and natural phosphates associated with the inoculation of rhizobacteria *Pseudomonads* via seeds, in the availability of soil P and root growth of corn plants. The experiment was conducted in a greenhouse in pots with dimensions of 14.3 cm diameter and 50 cm in height, using an Oxisol. The experimental design was randomized blocks in factorial scheme 6x3, with four replications. Were applied 50 mg kg⁻¹ P in the soil through five sources: Triple superphosphate (SFT), Gafsa rock phosphate (reactive), Itafos rock phosphate (nonreactive), SFT+Gafsa and SFT+Itafos (in both mixtures 1:1), and a control treatment (no P). These sources were associated with three inoculation levels: no inoculation, strain A (*Burkholderia pickettii* GN 2214) and strain B (*Pseudomonas* sp. Fluorescent group P21). In four soil layers (0-10, 10-20, 20-30 and 30-40 cm) were evaluated the following characteristics: root area (AR), root mean diameter (DR), root length (CR), root volume (VR), root dry weight (MSR), soil pH (pH), P concentration in soil (PS) and pH in the rhizosphere (pHR). The application of SFT acidified soil pH and rhizosphere. The SFT combined with the rock phosphate alone provided lower PS in relation to natural phosphate, due to overestimation of the waste acid by extraction of apatite. Gafsa phosphate was superior to Itafos for AR, DR and VR. The GN 2214 and P21 strains favored the DR in 10-20 cm layer. The inoculation with P21 reduced the soil pH and with the GN 2214, the pHR. P21 showed greater promotion of VR to the source SFT+Itafós in 30-40 cm layer. Combinations of soluble

phosphates with the natural provide root development due to increased availability of P to the soil solution.

Keywords: *Zea mays* L., phosphate, promoting growth, root dry weight, pH, rhizosphere.

5.1 INTRODUÇÃO

A concentração de P solúvel no solo é determinante para a morfologia radicular como diâmetro, comprimento e área radicular de plantas de milho (SCHENK; BARBER, 1979). Segundo Mollier e Pellerin (1999) a deficiência fosfatada afeta o crescimento da raiz devido ao efeito da divisão do carbono entre parte aérea e raiz.

A absorção de P é dependente do comprimento, diâmetro e da área superficial radicular em contato com o solo (ANGHINONI; BARBER, 1980). Através do aumento da demanda de P, a parte aérea controla o aumento da absorção de nutrientes para serem utilizados no crescimento, cujos carboidratos são supridos ao sistema radicular (SALISBURY; ROSS, 1992). Desta forma, ou as plantas respondem a este aumento nas taxas de absorção de P, ou investem no crescimento das raízes (KLEPKER, 1996).

O aumento do comprimento radicular está relacionado com a absorção de nutrientes nos primeiros estádios da planta (JING et al., 2010). Em partes, a absorção de nutrientes deve ser controlada pela atividade da parte aérea, seja suprimindo carboidratos necessários ao metabolismo ou suprimindo hormônios que afetam a absorção de raízes (KLEPKER, 1996).

Otimizando a disponibilidade de P às plantas, os fosfatos totalmente acidulados liberam este elemento de forma imediata ao serem aplicados no solo. Pertencem ao grupo dos superfosfatos, constituídos pelo grupo dos superfosfatos (simples e triplo) e pelo grupo dos amoniados (monofosfato – MAP e difosfato - DAP) (PROCHNOW; ALCARDE; CHIEN, 2004).

Fontes naturais de P podem ser uma alternativa para correção fosfatada nos sistemas agrícolas. Os fosfatos naturais podem ter origens ígnea,

metamórfica ou sedimentar (KAMINSKI; PERUZZO, 1997), sendo que a eficiência de uma fonte é classificada pelo potencial de troca isomórfica de PO_4^- por CO_4^{2-} que esta possui em sua estrutura (CHIEN; MENON, 1995). Este é o fator que determina a reatividade de um fosfato de rocha, e está diretamente relacionado com a solubilidade em ácido cítrico a 2% (KHASAWNEH; DOLL, 1978).

Fosfatos naturais sendo insolúveis necessitam de tempo para realizar a dissolução de P, e atingem um equilíbrio no solo (BARNES; KAMPRATH, 1975). O fosfato reativo de Gafsa possui origem sedimentar, podendo atingir eficiência agrônômica semelhante aos superfosfatos a longo prazo (SOUSA; LOBATO, 2003). A área superficial geométrica dos fosfatos sedimentares é em torno de 5% da área total, por causa da grande quantidade de poros abertos que estes fosfatos apresentam em suas estruturas (LEHR; McCLELLAN, 1972). O fosfato Itafós também é sedimentar, embora não reativo. Os fosfatos de Gafsa e Itafós quando combinado com fosfatos solúveis, pode ser uma alternativa para diminuição dos custos de produção. As misturas de fontes de P, utilizando fosfatos naturais com solúveis constituem uma alternativa viável de fornecimento deste elemento (PIAIA et al., 2002; FRANZINI; MURAOKA; MENDES, 2009).

O desempenho agrônômico de um fosfato de rocha, está dentre outros fatores, correlacionado com a solubilidade em citrato neutro de amônio + água, ácido cítrico ou ácido fórmico a 2% (CHIEN; HAMMOND, 1978). As mínimas exigências da Legislação para que um fosfato seja classificado como reativo, é que este apresente 27% de P_2O_5 total e 30% do P_2O_5 total solúvel em ácido cítrico a 2% (BRASIL, 2007).

Em solução, o íon PO_4^{3-} é protonado em vários graus dependendo do pH do solo, e é também pareado com muitos íons como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} e Al^{+3} (KHASAWNEH; DOLL, 1978). Considerando que a pH 4,1, o nível de equilíbrio da acidez é 100% para a extração de P de fosfatos de rocha, a pH 4,7 é somente 78% eficaz (BARNES, KAMPRATH, 1975).

As raízes das plantas são capazes de aumentar a taxa de dissolução de fosfatos de rocha reduzindo a concentração de P na solução do solo, e em alguns casos reduzindo o pH do solo (NYE; KIRK, 1987). A diferença pode surgir através do metabolismo da raiz da planta, sendo também pela maior atividade de microrganismos que estão perto das raízes, em comparação com os que estão mais distantes (RÖMHELD, 1986). O pH da rizosfera pode diferir do pH do solo em

até duas unidades, dependendo das condições da planta e fatores do solo (MARSCHNER, 1995b). A excreção de H^+ pelas raízes das plantas na rizosfera é causada por uma maior absorção de cátions em relação à de ânions (BOLAN et al., 1997).

As Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCPs) atuam na promoção de crescimento de plantas e na solubilização de fosfatos inorgânicos, por meio da excreção de ácidos orgânicos e da colonização rizosférica (BOLAN et al., 1997) associadas numa relação não simbiótica (SOTTERO, 2003). Estas rizobactérias afetam também a arquitetura de raiz pelo aumento do número dos pêlos radiculares, comprimento total e de ramificações (GAMALERO et al., 2002; HARTHMANN et al., 2010), em consequência da produção de hormônios vegetais ou reguladores do crescimento vegetal melhorando assim, a nutrição mineral de plantas (CATTELAN; HARTEL, 2000; GAMALERO et al., 2002).

A inoculação de rizobactérias é uma tecnologia promissora para aumentar a eficiência da adubação fosfatada e, conseqüentemente, melhorar a produtividade dos sistemas agrícolas, a longo prazo (NAIMAN; LATRÓNICO; SALAMONE, 2009). Além disso, se constituem em uma alternativa para a produção sustentável (ROSAS et al., 2009).

Pseudomonas do grupo Fluorescente, principalmente *Pseudomonas fluorescens* e *P. putida* têm chamado atenção devido suas habilidades em estabelecer grandes populações na rizosfera de sistemas radiculares das culturas (LOPER; ISHIMARU, 1991). A endorizosfera do milho é principalmente colonizada por *Bacillus* seguida das espécies *Pseudomonas* (LALANDE et al., 1989). Entre as bactérias estudadas, os isolados identificados como *Bacillus* sp. (B17) e *Burkholderia* sp. (B5) foram os mais eficientes solubilizadores de P-Ca (OLIVEIRA et al., 2008).

Os principais mecanismos na solubilização de fosfatos estão associados à produção de ácidos carbônicos vindos de CO_2 , e outros ácidos orgânicos, reduzindo compostos de Fe^{3+} para Fe^{2+} , e produzindo H_2S sob baixos níveis de O_2 (CATTELAN; HARTEL, 2000). A maioria dos ácidos orgânicos são hidroxiácidos, como os ácidos lácticos, glicólicos, cítricos, e succínicos, que podem formar quelantes com Ca^{2+} e Fe^{3+} (MARSCHNER, 1995a). A promoção direta de crescimento ocorre quando uma rizobactéria produz metabólitos que promovem diretamente o crescimento das plantas sem a interação com a microflora nativa do

solo (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000) Assim, as rizobactérias podem tanto aumentar a eficiência dos fosfatos naturais, pela ação de solubilização de P, quanto dos solúveis, pela ação promotora de crescimento radicular.

O objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento de raízes de plantas de milho e a disponibilidade de P no solo, em diferentes profundidades, em função de fontes de fosfatos solúveis e naturais associados à rizobactérias do gênero *Pseudomonas*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido sob condições controladas de casa de vegetação, na Embrapa Soja, Distrito de Warta, localizada à 23°11'37" S e 51°11'03" W, 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).

A concentração de P₂O₅ total e solubilidades em H₂O, citrato neutro de amônio + H₂O (CNA+ H₂O) e ácido cítrico a 2% (A.C.) das fontes de P utilizadas são apresentados na Tabela 5.1. Para fins de cálculo, utilizou-se o teor de P total das fontes.

O solo utilizado foi coletado no município de Ponta Grossa-PR, sendo o mesmo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo (EMBRAPA, 2006). Antes da aplicação dos tratamentos, realizou-se uma amostra composta para a

caracterização química e física do solo, cujos resultados são apresentados na Tabela 5.2.

Tabela 5.1. Concentração de P_2O_5 total, solubilidades de P_2O_5 das fontes de P utilizadas em ácido cítrico a 2% (A.C.) relação 1:100, em citrato neutro de amônio + H_2O (CNA+ H_2O) e em H_2O .

FONTE	TOTAL	H_2O	% P_2O_5	
			CNA+ H_2O	A.C.
SFT	45,00	37,00	41,00	40,40
GAFSA	29,58	0	6,51	10,00
ITAFÓS	23,17	0	-	5,50

Fonte: Prochnow, Alcarde e Chien (2004).

Tabela 5.2. Características químicas e físicas do solo da área experimental na profundidade 0-20 cm.

pH $CaCl_2$	Areia	Silte	Argila	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^+	Al^{+3}	H+Al	V%	P*	C
	----- g kg^{-1} -----			----- $cmol_c dm^{-3}$ -----						mg dm^{-3}	g dm^{-3}
4,44	552,0	77,5	370,5	1,9	1,2	0,10	0,40	3,51	47,69	0,68	59,49

*Mehlich-1

Com base nos resultados da análise química a correção do solo foi realizada com calcário dolomítico utilizando o método da saturação por bases. A quantidade de água aplicada para a reação do calcário foi determinada pelo cálculo para manter a umidade do solo na capacidade de campo. O solo permaneceu encubado, sob proteção de lona plástica durante 15 dias.

Após a reação do calcário, o solo foi levado à caldeira, para descontaminação, pela eliminação do excesso de microrganismos presentes neste meio. A caldeira é um equipamento que por meio de ar quente (encaminhado por tubulação), atinge temperaturas de até 100°C, utilizando lenha como combustível. Uma lona é adaptada neste cano, criando-se um ambiente fechado, sendo o solo aquecido homoganeamente. Este processo envolveu o transporte do solo, a adaptação da lona ao tubo, o aquecimento e o resfriamento do ar presente neste meio. O solo ficou sob temperaturas de até 100°C por pelo menos três horas.

Após a descontaminação, o solo foi destinado à estufa para secagem. O interior da estufa foi higienizado utilizando pano úmido com água e desinfetante (formol a 37%, dodecilbenzeno sulfonato de sódio a 12%) para a eliminação de microrganismos. Após a limpeza, o solo foi disposto em bandejas de aço, a qual permaneceu na estufa por cinco dias, à 65°C.

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 fósforo e demais macronutrientes.

Assim, os tubos foram dispostos sobre quatro bancadas, conforme o bloco de cada tratamento, em casa de vegetação com controle de temperatura entre 21 e 29°C.

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, que apresenta ciclo precoce, grão duro de cor alaranjada, com excelente sanidade foliar e produtividade de grãos (SEMENTES BALU, 2011).

No dia 09/06/2010, foram semeadas em cada vaso seis sementes de milho (não tratadas com fungicidas e inseticidas), com emergência das plântulas aos quatro dias após a semeadura (DAS). Uma semana após a emergência foi realizado o desbaste, deixando duas plantas por vaso. O segundo desbaste foi realizado aos 15 DAE, deixando uma planta por vaso. Aos 16 DAE aplicou-se uma solução de micronutrientes composta por MnSO₄H₂O, ZnSO₄(7H₂O), CuSO₄(5H₂O), (NH₄)₆Mo₇O₂₄(4H₂O), H₃BO₃ e FeSO₄, nas doses 10, 10, 5, 1, 0,5 e 10 mg kg⁻¹, respectivamente. A adubação de cobertura foi realizada no estágio V₄ com aplicação de 25 mg kg⁻¹ de N e de K, nas formas de ureia e de cloreto de potássio, respectivamente.

Por ocasião do florescimento masculino, o experimento foi encerrado e os vasos desmontados, com separação do solo em quatro camadas de 10 cm (0-10, 10-20, 20-30, 30-40). Cada uma dessas camadas foi destinada à estufa por 24 h para secagem, visando maior praticidade para a separação das raízes. Após separadas com o auxílio de pinça e peneiras, as raízes foram colocadas em sacos de papel devidamente identificados e armazenados em saco plástico para posterior análise da área radicular (**AR**), diâmetro médio radicular (**DR**), comprimento radicular (**CR**) e volume radicular (**VR**). As raízes foram lavadas, e secas em estufa por 48 h à 65°C. Posteriormente, cada amostra foi escaneada pelo equipamento HP-C7670A. Com auxílio do programa Adobe Photoshop CS5, foi realizado um contraste entre a raiz e o fundo da imagem, permitindo assim, que o programa Delta-T Scan diferenciasse o objeto analisado. Este programa é capaz de calcular estas variáveis por meio de algoritmos. O programa expressou as unidades das variáveis em: AR – cm², DR-mm, CR-m e VR-cm³. As análises foram realizadas conforme a metodologia do manual do equipamento (KIRCHHOF; PENDAR, 1993). Para avaliação da massa seca de raízes (**MSR**) as imagens das mesmas foram colocadas em estufa à 65°C até atingir massa constante. Em seguida, foram pesadas em balança analítica, com os resultados expressos em gramas.

O solo de cada camada também foi devidamente armazenado para análises de pH do solo (**pH**) e da rizosfera (**pHR**) em CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, e do teor de P do solo (**PS**) (Mehlich-1) segundo procedimentos descritos em Embrapa (1999).

Para amostrar o solo da rizosfera na determinação pHR, separou-se o solo que estava preso à raiz com o auxílio de pinça ou manualmente. Realizou-se uma amostra para cada camada de solo, contudo, estas foram misturadas entre si perfazendo somente uma amostra por tratamento, devido ao pouco solo coletado por este método.

Os dados foram submetidos à análise de variância, independentemente para cada camada de solo, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 5.3 é apresentado o resumo da análise de variância em função de fontes de P e níveis de inoculação com rizobactérias para as características morfológicas de raiz e químicas do solo, avaliadas no experimento. A variável pH da rizosfera (pHR) não foi avaliada nas diferentes camadas, portanto não está relacionada na Tabela 5.3. Houve interação significativa entre fontes de P e os níveis de inoculação para pHR.

Tabela 5.3. Resultados obtidos pela análise de variância para as variáveis área radicular (AR), diâmetro radicular (DR), comprimento radicular (CR), volume radicular (VR), massa seca de raiz (MSR), pH do solo (pH) e teor de P no solo (PS), para as camadas 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm em função de fontes de P e níveis de inoculação com rizobactérias.

FONTE DE VARIAÇÃO	VALOR DE F						
	AR	DR	CR	VR	MSR	pH	OS
0-10 cm							
Fonte	*	*	*	*	*	*	*
Inoculante	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fonte X Inoculante	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV(%)	40,25	13,17	45,51	45,86	45,95	3,98	43,09
10-20 cm							
Fonte	*	*	*	*	*	*	ns
Inoculante	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fonte X Inoculante	ns	*	ns	ns	ns	*	*
CV(%)	45,03	13,67	46,34	65,05	40,24	3,81	72,81
20-30 cm							
Fonte	*	*	*	*	*	*	*
Inoculante	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
Fonte X Inoculante	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV(%)	35,37	15,79	44,78	48,62	52,05	4,21	89,91
30-40 cm							
Fonte	*	*	*	*	*	ns	*
Inoculante	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fonte X Inoculante	ns	ns	ns	*	ns	ns	*
CV(%)	47,40	13,95	45,43	55,96	56,46	32,24	42,72

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

Os resultados para a área radicular (AR) nas camadas 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm são apresentados na Figura 5.1.A, 5.1.B, 5.1.C e 5.1.D, respectivamente. Os tratamentos constituídos por SFT (SFT, SFT+Gafsa e

SFT+Itafós) proporcionaram maior área radicular em todas as camadas analisadas em relação às fontes naturais isoladas e o controle.

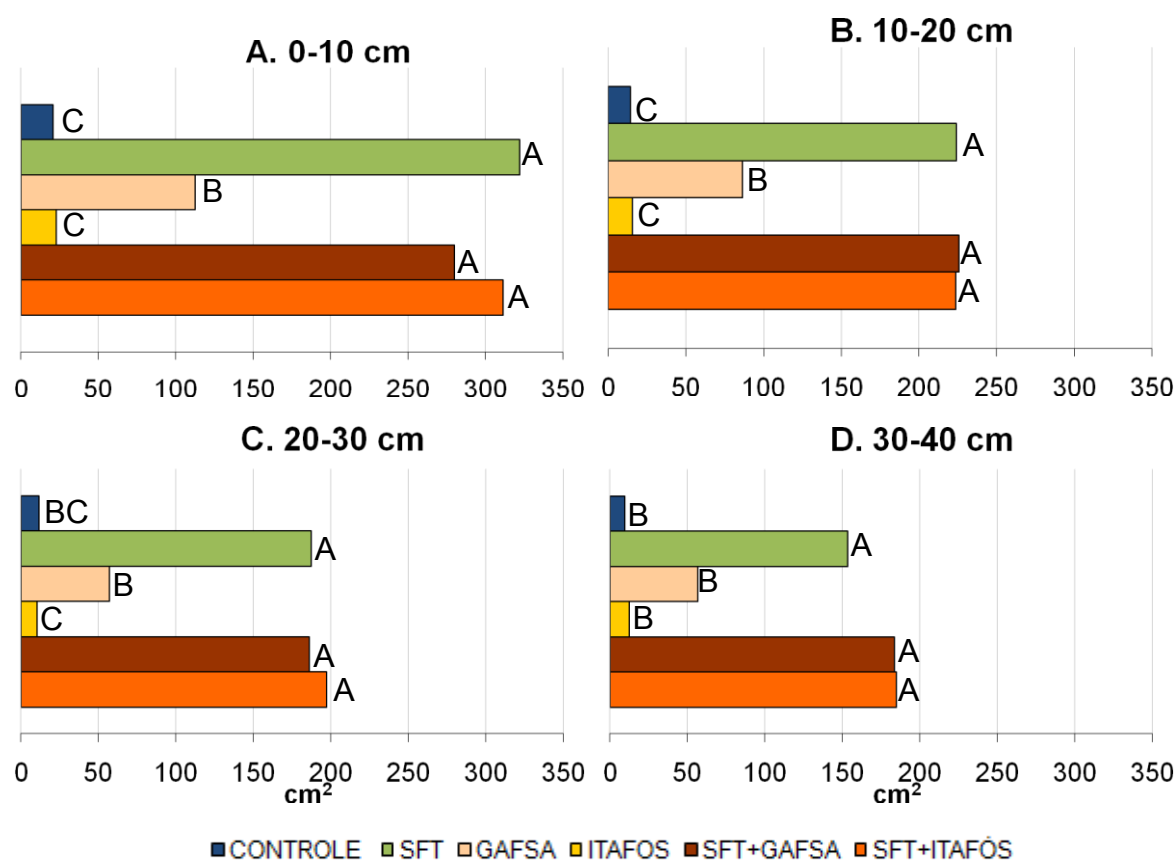


Figura 5.1. Dados médios de área radicular (AR) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey $p < 0,01$.

A aplicação do fosfato de Gafsa apresentou resultado superior de AR em relação ao Itafós e ao controle para as camadas de 0-10 e 20-30 cm (Figura 5.1.A e 5.1.C). Entretanto, igualou-se ao Itafós nas camadas de 10-20 cm e 30-40 cm (Figura 5.1.B e 5.1.D). O Gafsa isolado produziu 35, 36 e 40% da área radicular em relação à SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós, respectivamente, na camada 0-10 cm (Figura 5.1.A). Devido à sua reatividade, o fosfato de Gafsa forneceu maior P à solução do solo, proporcionando maior área radicular na camada 0-10 cm que o fosfato Itafós. Quando combinado com o P solúvel, as fontes dos fosfatos naturais (SFT+Gafsa e SFT+Itafós) proporcionaram aumentos médios (para as quatro camadas) de 189% para o Gafsa e 1454% para o Itafós, respectivamente. Corroborando com os resultados obtidos vários autores também relataram aumentos na área radicular de milho mediante aplicação de fontes fosfatadas (SCHENK;

BARBER, 1979; HAJABBASI; SCHUMACHER, 1994; RAMIREZ; FERNANDEZ; LIZASO, 2001).

A absorção de P é dependente da área superficial radicular que está em contato com o solo (ANGHINONI; BARBER, 1980). A concentração do P solúvel na solução do solo é determinante para a formação e desenvolvimento da raiz (SCHENK; BARBER, 1979). Segundo Ramirez, Fernandez e Lizaso (2001) há uma grande variação na absorção de P entre genótipos de milho para a formação da área radicular. Nesse sentido, Hajabbasi e Schumacher (1994) observaram aumentos na área radicular em dois genótipos de milho. Schenk e Barber (1979) também relataram grande variação entre genótipos, obtendo resposta à aplicação fosfatada num solo com baixa disponibilidade de P. Desta forma, o híbrido utilizado apresentou potencial na absorção de P pela fonte SFT isolada e associada aos naturais (Figura 5.1.A, 5.1.B, 5.1.C e 5.1.D). Observando estes incrementos, pode-se afirmar que o maior teor de P no solo (0-40 cm) foi determinante para o aumento da área radicular.

Os tratamentos SFT, SFT combinado com os fosfatos naturais e o fosfato de Gafsa isolado apresentaram, nas camadas 0-10 e 10-20 cm, maior diâmetro médio radicular que o fosfato Itafós e o controle (Figura 5.2.A e 5.2.B). Nas camadas 20-30 e 30-40 cm o SFT+Itafós resultou em maior diâmetro médio de raiz que os fosfatos naturais e o controle, contudo, não diferiu dos demais tratamentos contendo fosfato solúvel.

Sob escassez de assimilados durante a deficiência fosfatada, o comportamento das plantas em reduzir o diâmetro da raiz, parece ser um mecanismo para aumentar a AR por unidade de massa, melhorando a absorção de P para a parte aérea (SCHENK; BARBER, 1979). Assim, a absorção de P também é dependente do DR (ANGHINONI; BARBER, 1980). Desta forma, os menores DR observados nos dados (Figura 5.2.A, 5.2.B, 5.2.C e 5.2.D) foram respostas da planta à severa deficiência de P, buscando aumentos na AR para suprir esta demanda.

Segundo Mollier e Pellerin (1999), não há efeito significativo no diâmetro basal das raízes (0,95 mm) com supressão de P. Por outro lado, os diâmetros apicais foram ligeiramente reduzidos com a falta de P (0,75 mm para plantas privadas de P a 0,98 mm do controle). Contudo, no presente trabalho não foram feitas análises por partes, na média predominou o aumento do diâmetro radicular.

As fontes SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós destacaram-se em relação às demais em quanto ao CR (Figura 5.3.A, 5.3.B, 5.3.C e 5.3.D). Vários autores relataram aumentos no CR de milho mediante aplicação de fontes fosfatadas (ANGHINONI; BARBER, 1980; KLEPKER, 1996; ALLOUSH; CLARK, 2001; RAMIREZ; LIZASO, 2006; IBRIKÇI et al., 2009), em relação ao controle.

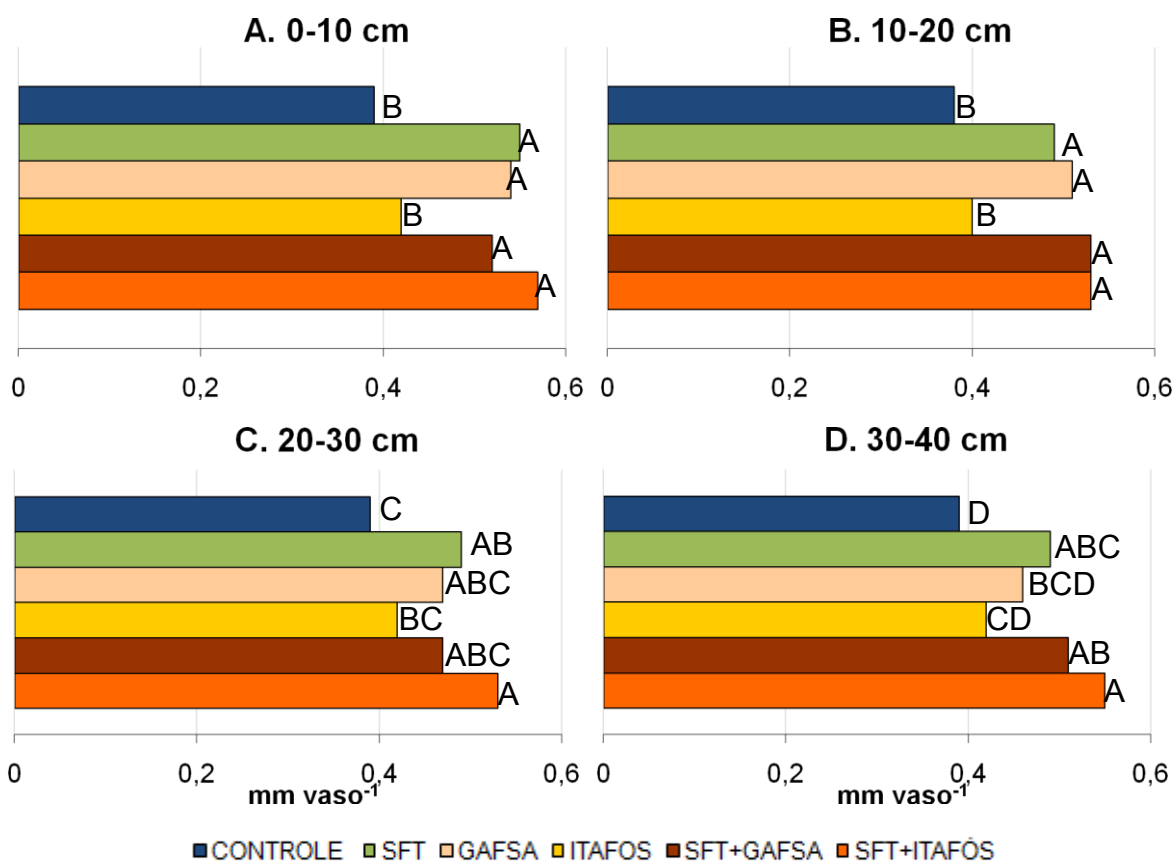


Figura 5.2. Dados médios de diâmetro radicular (DR) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey $p < 0,01$.

Corroborando com estes resultados, Klepker (1996) também observou incrementos no CR de milho na camada 0-10 cm com aplicação de SFT em relação ao controle. Já Ramirez e Lizaso (2006), relataram aumentos no CR de milho aplicando SFT em relação ao fosfato de rocha Riecito.

Alloush e Clark (2001) verificaram que o comprimento da raiz com a aplicação de fosfato natural (Ain Lylon) foi superior em relação ao controle, divergindo, portanto, dos resultados obtidos neste estudo, onde a aplicação de Itafós e Gafsa não diferiram do controle quanto ao comprimento de raiz.

A concentração de P na solução do solo é determinante para a morfologia radicular influenciando o diâmetro, o comprimento, a formação de raízes laterais e a área radicular (SCHENK; BARBER, 1979). Os resultados de CP obtidos neste trabalho estão de acordo com Klepker (1996) e Ramirez e Lizaso (2006), os quais aplicando SFT obtiveram diferenças em relação ao controle e ao fosfato natural, respectivamente.

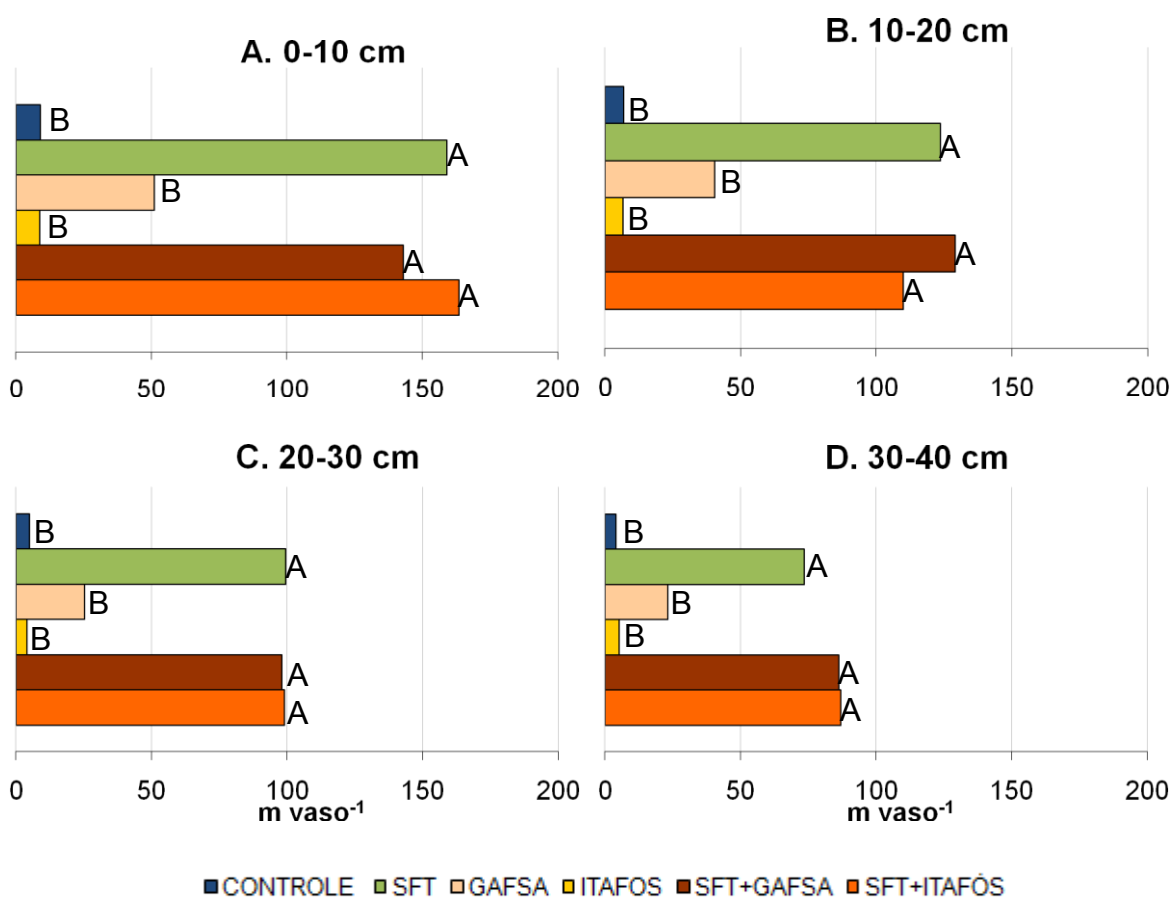


Figura 5.3. Dados médios de comprimento da raiz (CR) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey $p < 0,01$.

As combinações SFT+Gafsa e SFT+Itafós produziram incrementos médios de CR (para as quatro camadas) de 239% em relação ao Gafsa, e 1821% ao Itafós, respectivamente (Figura 5.3.A, 5.3.B, 5.3.C e 5.3.D).

O volume de raiz observado em resposta à aplicação do fosfato de Gafsa foi estatisticamente superior verificado com a aplicação do fosfato Itafós e do controle, na camada 0-10 cm (Figura 5.4.A), entretanto, nas demais camadas os valores de VR não diferiram entre essas fontes (Figura 5.4.B, 5.4.C e 5.4.D).

Os tratamentos SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós foram superiores em relação aos demais em todo perfil (Figura 5.4). O SFT+Itafós na camada 30-40 cm resultou em maior VR (Figura 5.4.D), superior inclusive ao SFT. Portanto, novamente a aplicação de SFT isoladamente ou combinado com os fosfatos naturais foi determinante para o incremento do volume radicular, no intervalo 0-40 cm.

Assim como na AR, o fosfato de Gafsa demonstrou maior eficiência que o Itafós para o VR, e isto pode estar associado ao seu elevado grau de substituições isomórficas, que por sua vez, é o que lhe confere maior reatividade em relação ao Itafós.

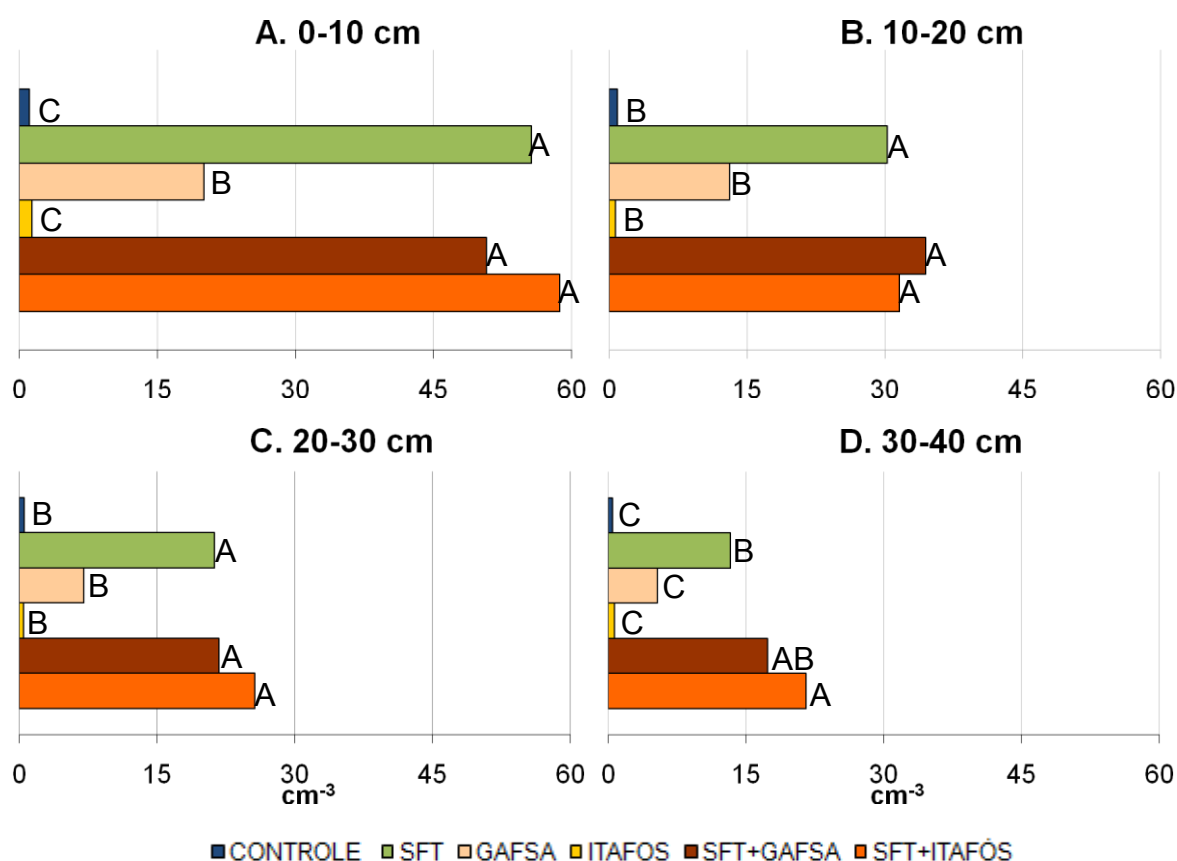


Figura 5.4. Dados médios de volume da raiz (VR) de plantas de milho mediante em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey $p < 0,01$.

Os fosfatos naturais isolados (Gafsa e Itafós) e o controle não diferiram entre si com relação à massa seca de raiz (Figura 5.5.A, 5.5.B, 5.5.C e 5.5.D). Os tratamentos constituídos por SFT (SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós) proporcionaram aumentos na MSR de milho, em relação ao controle e aos fosfatos naturais. Na camada 20-30 cm o SFT foi superior ao SFT+Itafós (Figura 5.5.C).

Klepker (1996) e Batista et al. (2009) também relataram incrementos na massa seca de raízes de milho com a aplicação de SFT em relação ao controle.

Na Figura 5.6.A, 5.6.B, 5.6.C e 5.6.D, são apresentados os resultados para pH do solo (pH) nas camadas 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm, respectivamente. A aplicação de SFT levou à diminuição do pH em todas as camadas, sendo diferente dos tratamentos controle e Itafós na camada de 0-10 (Figura 5.6.A), do controle e do Itafós e Gafsa na camada 10-20 (Figura 5.6.B) e do Itafós, Gafsa e SFT+Itafós na camada de 20-30 cm (Figura 5.6.C). Não houve diferenças entre as fontes de P para a camada 30-40 cm. Esta diminuição do pH do solo promovido pelo SFT é devido à acidez gerada pela hidrólise do fosfato, dando origem à formação de ácido fosfórico (BRAGA; AMARAL, 1971).

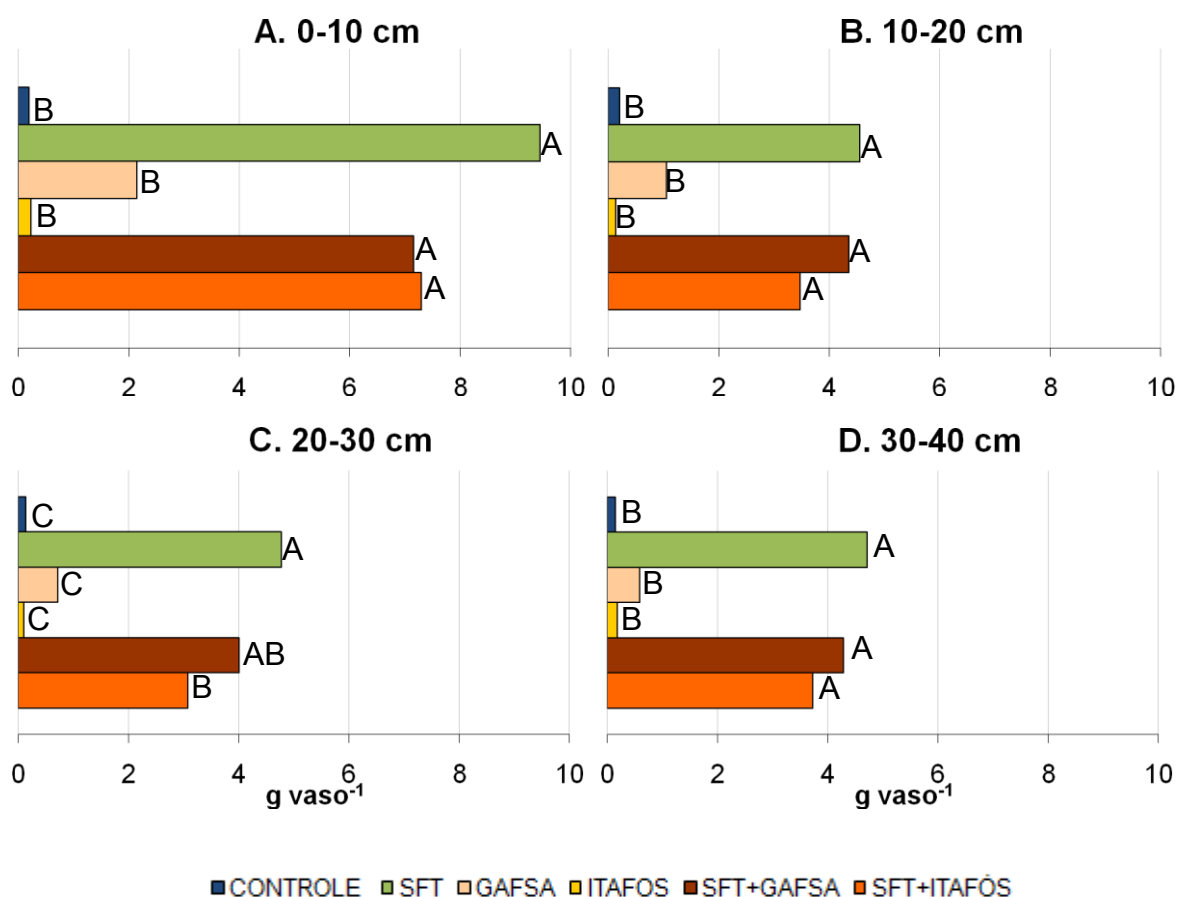


Figura 5.5. Dados médios de massa seca da raiz (MSR) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey $p < 0,01$.

SFT+Itafós também resultou em pH baixo, sendo inferior ao Itafós e o controle (Figura 5.6.A) e controle, Gafsa e Itafós (Figura 5.6.B). A fonte de

adubação fosfatada que proporcionou pH menos ácido foi a Itafós (Figura 5.6.A, 5.6.B e 5.6.C). Na camada 30-40 não houve diferença significativa entre os valores encontrados (Figura 6.D). Para que haja melhores condições para a dissolução dos fosfatos de rocha, o pH deve ser inferior a 5,0 ou próximo a este nível (BARNES; KAMPRATH, 1975), a qual foi obtido com SFT+Itafós e SFT+Gafsa (Figura 5.6.A e 5.6.B). Entretanto, apesar dos valores de pH terem sido diferentes para as camadas de 0-10, 10-20 e 20-30 cm, esta diferença em termos de valores é muito pequena, podendo não interferir na maior ou menor disponibilidade de nutrientes no solo.

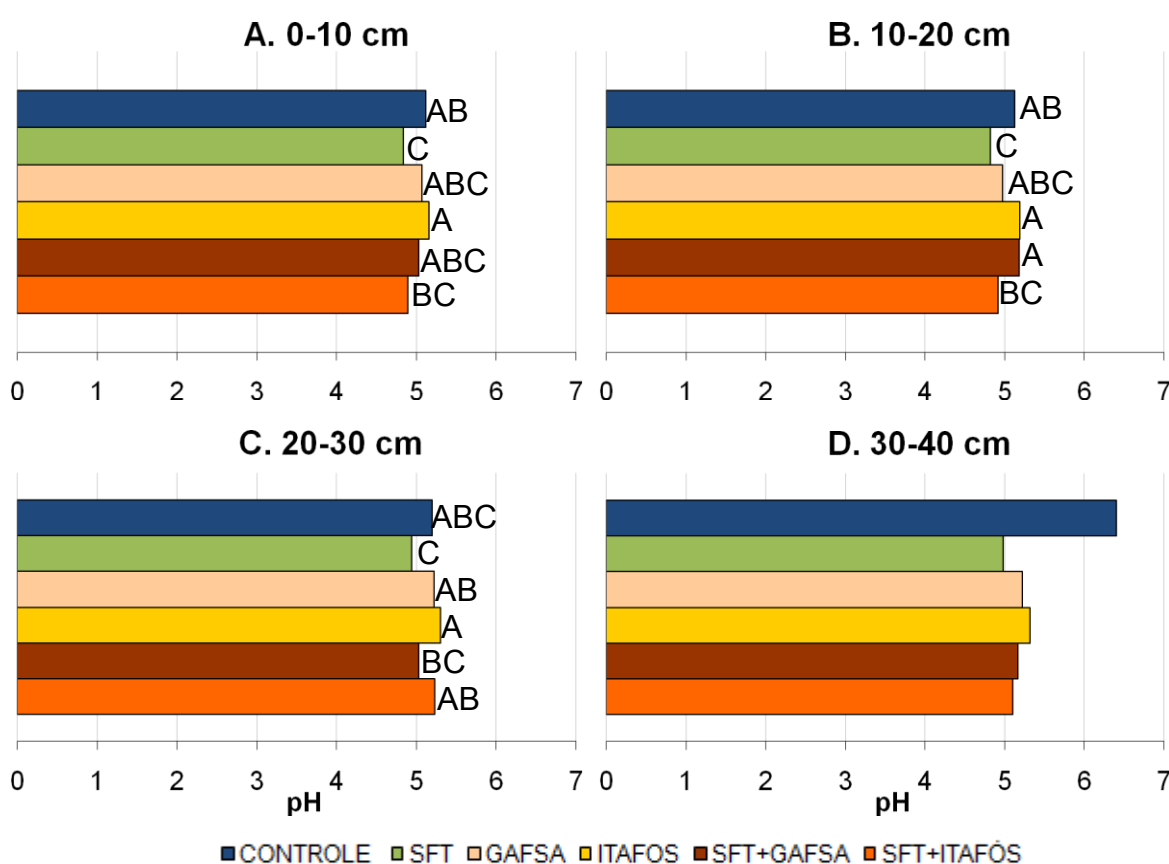


Figura 5.6. Dados médios de pH do solo (pH) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey $p < 0,01$.

Segundo Ramirez, Fernandez e Lizaso (2001), o pH do solo foi maior quando foi aplicado fosfato de rocha Riecito, em relação à aplicação de SFT. O pH do solo variou de 4,4 a 4,5 quando aplicado SFT, e quando aplicado o fosfato natural, variou de 4,6 a 4,9. Batista et al. (2009), observaram que a aplicação de fosfato de Arad e SFT no solo durante a cultura do milho, diminuiu o pH do solo (controle) de 6,6 para 5,9 e 6,4, respectivamente, não havendo efeito significativo de

fontes. O pH do solo não variou quando na ausência de plantas, na aplicação de fosfato de rocha ou SFT (RAMIREZ; FERNANDEZ; LIZASO, 2001). Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com Ramirez, Fernandez e Lizaso (2001) e Batista et al. (2009), sendo que a aplicação de P reduziu o pH, que por sua vez, na aplicação de SFT proporcionou pH do solo mais ácido que em relação aos fosfatos naturais isolados. Esta acidificação ocorre devido à liberação de prótons provenientes da intensa substituição de fosfato por carbonato na apatita para a solução do solo, e está correlacionada com a maior eficiência agronômica dos fosfatos de rocha. A aplicação de SFT promoveu uma variação do pH do solo de 4,8 a 5,0, e a aplicação de Gafsa e Itafós proporcionaram variações de 5,0 a 5,2 e 5,2 a 5,3, respectivamente, no pH do solo nas quatro camadas (Figura 5.6.A., 5.6.B, 5.6.C e 5.6.D).

Em solução, o íon PO_4^{3-} é protonado em vários graus dependendo do pH, e é também pareado com muitos íons como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+} (KHASAWNEH; DOLL, 1978). O fornecimento de prótons tem sido enfatizado como um dos principais fatores influenciadores na dissolução de fosfatos de rocha no solo (BARNES; KAMPRATH, 1975). Baixos valores de pH até certos níveis, aumentam a substituição de CO_3^{2-} na gênese da rocha, disponibilizando o P para a solução do solo (KHASAWNEH; DOLL, 1978). Assim, a diminuição do pH do solo com a aplicação de SFT pode condicionar a solubilização dos fosfatos de rocha.

Os resultados para o teor de P do solo (PS) nas camadas 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm são apresentados na Figura 5.7.A, 5.7.B, 5.7.C e 5.7.D, respectivamente. A aplicação de fosfatos naturais isolados resultou em maiores teores de PS na camada de 0-10 cm, sendo o Gafsa superior às demais fontes (Figura 5.7.A). O fosfato Itafós isolado foi superior ao controle, SFT e SFT+Itafós, embora estatisticamente igual ao SFT+Gafsa. SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós só foram superiores ao controle quanto ao teor de P no solo.

Na camada 10-20 cm (Figura 5.7.B) não houve efeito significativo de fontes de P no PS solo. Na camada 20-30 cm (Figura 5.7.C), o Gafsa isolado apresentou maior PS em relação ao SFT+Gafsa, sendo as demais fontes estatisticamente iguais. Na camada 30-40 cm (Figura 5.7.D), o controle, SFT e Gafsa isolado apresentaram maior PS que Itafós, SFT+Gafsa e SFT+Itafós. Apesar de significativos (Figura 5.7.C e 5.7.D), estes valores são muito baixos e apresentam diferenças muito pequenas, não tendo aplicação na prática. Considerando que a

aplicação das fontes na instalação do experimento foi para a camada 0-20 cm e que os maiores resultados foram obtidos somente na camada 0-10 cm, podemos supor que este resultado é devido a um acomodamento do solo conforme o mesmo foi umedecido. Assim, na realização da amostragem do solo na camada 0-10 cm, praticamente todo P foi coletado resultando nos valores mais altos. Braga et al. (1991) realizando análises de solo com extrator H_2SO_4 0,05 N (similar ao Mehlich-1), relatam que as maiores quantidades de P foram extraídas dos tratamentos com fosfatos nacionais, seguidos pelo fosfato de Gafsa e SFT.

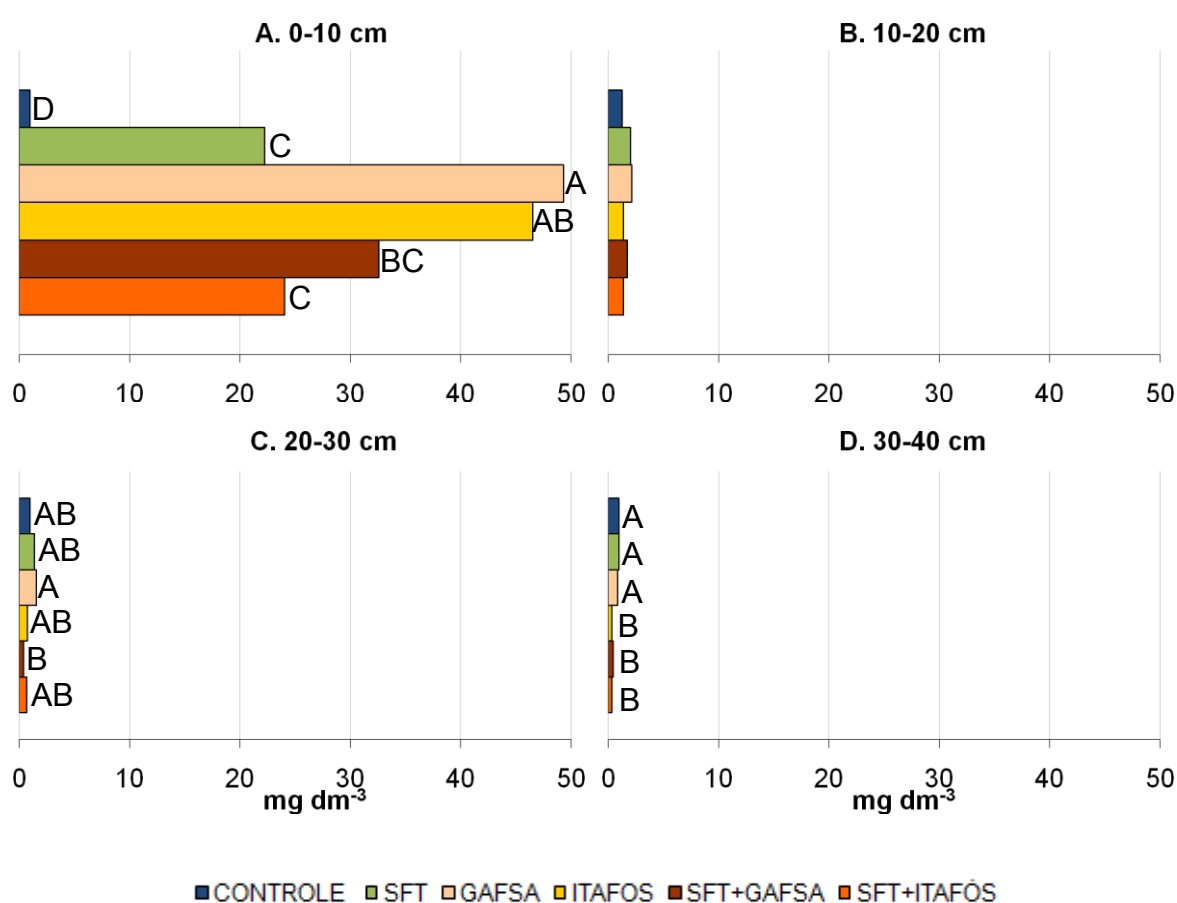


Figura 5.7. Dados médios do teor de P do solo (PS) de plantas de milho em resposta às fontes fosfatadas para as camadas A. 0-10, B. 10-20, C. 20-30 e D. 30-40 cm. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey $p < 0,01$.

Desta forma, observando a Figura 5.7.A, os fosfatos naturais apresentaram altos valores de P, atingindo $46,5 \text{ mg dm}^{-3}$ para Itafós e $49,3 \text{ mg dm}^{-3}$ para o fosfato de Gafsa. Nos tratamentos combinados (SFT+Gafsa e SFT+Itafós), os teores de P foram menores ($32,6$ e $24,1 \text{ mg dm}^{-3}$) e estatisticamente iguais ao SFT ($22,3 \text{ mg dm}^{-3}$).

No Brasil, os extratores mais utilizados para avaliar o teor de P no solo são o Mehlich-1 e o Bray (GOEDERT; LOBATO, 1980; RAIJ, 2004). Segundo estes autores, o extrator de Mehlich-1 superestima o teor de P proveniente de fosfatos de rocha, não sendo a condição real de P na solução. Isto é devido à dissolução de resíduos de apatita pelo H_2SO_4 0,025 mol L^{-1} (BRAGA et al., 1991). O fosfato aplicado na superfície do solo, que em geral apresenta pH elevado pela correção da acidez, encontra-se em condições desfavoráveis para dissolução. Assim, as amostras de solo destinadas ao laboratório podem conter partículas de fosfato natural, que no processo de análise de solo, serão dissolvidas no extrator Mehlich-1, fornecendo resultados altos, mesmo em condições de deficiência de P no solo (RAIJ, 2004).

Na Figura 5.8 são apresentados os resultados de DR em função de níveis de inoculação, para a camada 20-30 cm. A inoculação de P21 proporcionou maior DR que a inoculação de GN 2214, contudo foi semelhante ao controle. Observa-se que o aumento significativo para DR na camada 20-30 cm foi entre as rizobactérias, não envolvendo o controle. P21 mostrou ser mais eficiente que GN 2214 em camadas mais profundas (20-30 cm). O maior DR proporcionado pela inoculação com a estirpe P21 está altamente relacionado à maior absorção de P pela planta (ANGHINONI; BARBER, 1980).

Não houve efeito significativo da inoculação com rizobactérias nas sementes de milho para AR, CR e MSR. Segundo Gamalero et al. (2002) a atividade de *P. fluorescens* na rizosfera difere de acordo com as condições do crescimento da planta. Há variações nos benefícios fornecidos pelas rizobactérias promotoras de crescimento conforme a condição do meio ambiente, da planta e do solo em que ela se encontra (ŞAHIN; ÇAKMAKÇI; KANTAR, 2004).

Houve interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* em plantas de milho para DR, pH e PS na camada de 10-20 cm, cujos desdobramentos são apresentados na Tabela 5.4.

Na ausência de inoculação a fonte SFT+Itafós destacou-se quanto ao DR, sendo este tratamento superior ao controle e aos fosfatos naturais isolados. Na inoculação de GN 2214, o fosfato de Gafsa isolado resultou em maior DR que o Itafós e o controle. Quando com inoculação de P21, houve diferença estatística para os tratamentos Gafsa e SFT+Gafsa em relação ao controle e Itafós. Quando utilizado o fosfato de Gafsa as inoculações com GN 2214 e P21 foram superiores à

não inoculação em relação ao DR. Quando o Gafsa foi associado ao SFT apenas a inoculação com P21 favoreceu o DR.

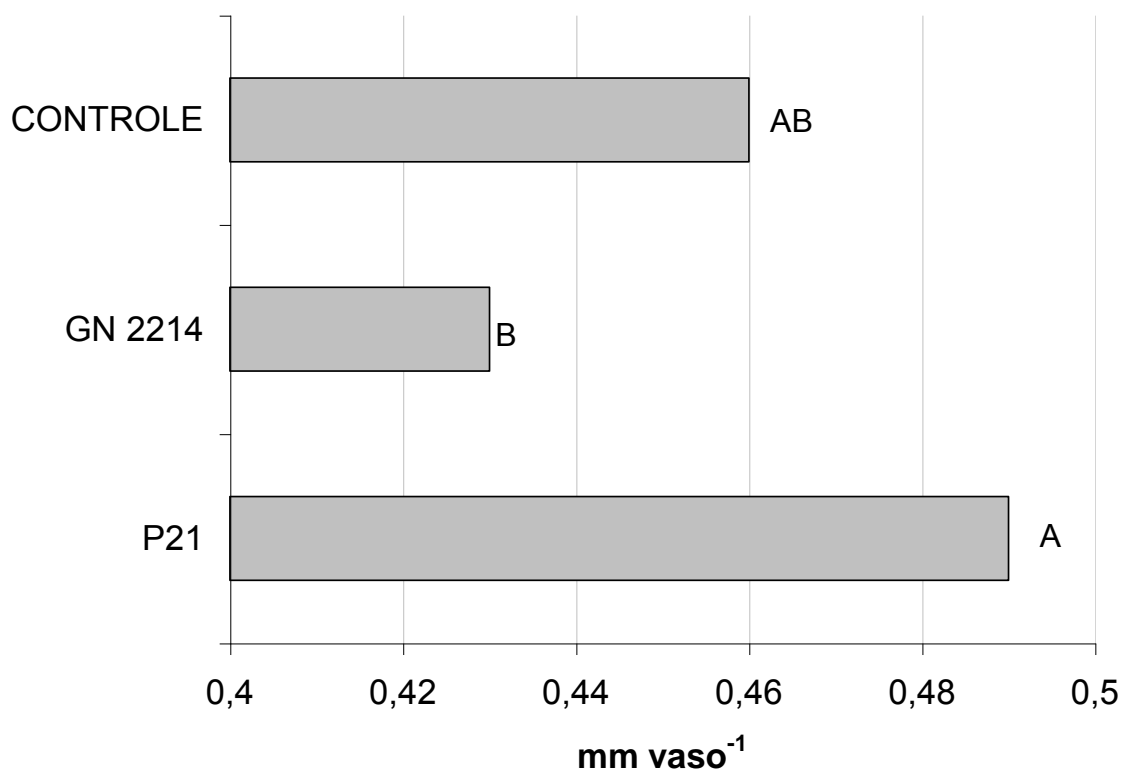


Figura 5.8. Dados médios de diâmetro de raiz (DR) de plantas de milho na camada 20-30 cm em função de níveis de inoculação. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey $p < 0,05$.

Desta forma, os menores valores apresentados para DR estão relacionados com a baixa disponibilidade de P na solução do solo (Tabela 5.4). O menor DR está diretamente relacionado à deficiência de P visando o aumento da absorção de P na parte aérea (ANGHINONI; BARBER). Raízes mais finas possuem maior área superficial radicular para aumentar o contato com o solo e visar o aumento do suprimento fosfatado (SCHENK; BARBER, 1979).

Os tratamentos Gafsa e SFT+Gafsa demonstraram maior compatibilidade com as rizobactérias inoculadas via sementes, visto que não houve efeito de inoculação nas demais fontes para DR. Carlier et al. (2008) também observaram incrementos na área radicular em plantas de trigo, com a inoculação de *P. chlororaphis*, em relação ao controle. Estes aumentos podem estar associados à colonização da *P. fluorescens* na rizosfera das plantas de milho (CHABOT et al.,

1998), a qual por meio da produção de metabólitos promoveram o crescimento do DR das plantas de milho (ZAGO; DE-POLLI; RUMJANEK, 2000). Este resultado evidencia o mecanismo de ação da rizobactéria, buscando maior absorção de P pela planta.

Tabela 5.4. Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* para diâmetro de raiz de milho (DR), pH do solo (pH) e teor de P no solo (PS) na camada 10-20 cm.

FONTES DE P	DR			pH			PS		
	SEM	GN 2214	P21	SEM	GN 2214	P21	SEM	GN 2214	P21
CONTROLE	0,39 aB	0,38 aD	0,36 aB	5,10 aA	5,18 aAB	5,12 aAB	1,01 aA	1,65 aAB	1,16 aA
SFT	0,50 aAB	0,50 aABC	0,47 aAB	4,84 aA	4,79 aB	4,83 aBC	1,78 aA	2,16 aAB	2,11 aA
GAFSA	0,42 bB	0,55 aA	0,56 aA	4,94 aA	5,07 aAB	4,91 aBC	1,40 bA	3,82 aA	1,30 bA
ITAFOS	0,40 aB	0,41 aBC	0,39 aB	5,13 aA	5,21 aA	5,23 aAB	1,28 aA	1,45 aAB	1,46 aA
SFT+GAFSA	0,46 bAB	0,52 abAB	0,61 aA	4,92 bA	5,24 abA	5,37 aA	3,14 aA	1,35 abAB	0,74 bA
SFT+ITAFÓS	0,57 aA	0,51 aABC	0,50 aAB	5,05 aA	5,03 aAB	4,69 bC	0,68 aA	1,12 aB	2,36 aA

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

Quando na ausência de inoculação não houve diferença entre as fontes em relação ao pH do solo. Inoculando GN 2214, Itafós e SFT+Gafsa proporcionaram maior pH em relação ao SFT. Com a inoculação da rizobactéria P21, o controle, Itafós e SFT+Gafsa resultaram em pH menos ácido que SFT+Itafós (Tabela 5.4).

Entre os níveis de inoculação, quando usado SFT+Gafsa P21 proporcionou maior pH que à não inoculação. Para a fonte SFT+Itafós, a inoculação de P21 proporcionou pH mais ácido que à não inoculação.

A formação de ácido fosfórico, gerada pela acidez da hidrólise do fosfato, pode ser o motivo da diminuição do pH do solo com aplicação de SFT (BRAGA; AMARAL, 1971). O tipo e a quantidade de produtos formados nesta reação de hidrólise do fosfato dependem de características específicas do fertilizante aplicado e das características químicas e mineralógicas do solo (CHIEN 1985, apud PROCHNOW; ALCARDE; CHIEN, 2004).

A inoculação de rizobactérias resultou em variações no pH do solo entre as fontes. Para efeito de solubilização do P, os dois principais mecanismos atribuídos à solubilização dos fosfatos naturais pelas RPCPs são excreção de H^+ e produção de ácidos orgânicos (ARCAND; SCHNEIDER, 2006). Os ácidos orgânicos

produzidos por microrganismos incluem os ácidos glucônico, cítrico e oxálico (RICHARDSON, 2001).

Considerando que este desdobramento refere-se à camada 10-20 cm (Tabela 5.4), onde os fosfatos foram incorporados, pode-se observar que os teores de P do solo das fontes são baixos (0,7-3,8 mg dm⁻³). Na inoculação de GN 2214, o fosfato de Gafsa apresentou maior teor de PS (3,8 mg dm⁻³) em relação à fonte SFT+Itafós (1,1 mg dm⁻³). Entre as inoculações, GN 2214 apresentou potencial solubilizador de P ao aumentar o PS do solo de 1,4 à 3,8 mg dm⁻³ (controle), para o fosfato de Gafsa. Na fonte SFT+Gafsa, GN 2214 foi estatisticamente igual ao controle quanto ao PS, que por sua vez, foi superior à inoculação de P21. Os aumentos nos teores de P do solo com a presença das rizobactérias podem ser explicados pela produção de ácidos orgânicos pelas plantas e pelas rizobactérias, que por sua vez, estimulam a disponibilidade dos nutrientes (ESITKEN et al., 2010). Além de ácidos orgânicos, ácidos inorgânicos e agentes quelantes também podem aumentar a solubilização do fosfato (JEON et al., 2003). Contudo, não há aplicação prática para valores tão baixos.

Houve interação entre fontes de P e níveis de inoculação para VR na camada 30-40 cm (Tabela 5.5). As fontes SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós apresentaram maior VR que às demais quando sem inoculação. Inoculando GN 2214 e P21, SFT+Gafsa e SFT+Itafós foram superior aos demais, respectivamente. Quando inoculada a estirpe P21, SFT e SFT+Gafsa diferiram do controle e dos fosfatos naturais isolados.

Entre os níveis de inoculação, a estirpe P21 favoreceu o VR em relação à GN 2214 e à não inoculação no tratamento SFT+Itafós. Nas demais fontes não diferença entre as rizobactérias. Carlier et al. (2008), obtiveram aumentos de mais de 60% nos parâmetros de raiz com a inoculação de *P. chlororaphis* em plantas de trigo, em relação ao controle. Gamalero et al. (2002), relataram aumentos no volume de raízes de tomate inoculando *Pseudomonas fluorescens*. Muitas bactérias rizosféricas possuem habilidade em promover a morfologia radicular (HARTHMAN et al., 2010). Esse efeito é atribuído à produção microbiana de estímulos de crescimento hormonais vegetais ou reguladores do crescimento vegetal (CATTELAN; HARTEL, 2000). O resultado destes autores estão de acordo com os dados obtidos, demonstrando que as RPCPs possuem potencial para proporcionar incrementos no volume radicular das plantas.

Conforme a Tabela 5.5, os valores obtidos para PS são muito baixos não havendo disponibilidade de P para o desenvolvimento de plantas. Desta forma, mesmo havendo diferença significativa, não há coerência com a prática. O limite de detecção do método colorimétrico é de 1 mg dm^{-3} , portanto não há precisão para afirmar tais valores, enquanto estes podem ser derivados da variação da determinação do P no solo.

Tabela 5.5. Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação via sementes de *P. fluorescens* em sementes de milho para volume radicular (VR) e teor de P no solo (PS), na profundidade 30-40 cm.

FONTES DE P	VR			PS		
	SEM	GN 2214	P21	SEM	GN 2214	P21
CONTROLE	0,50 aC	0,34 aD	0,56 aC	0,99 aA	0,91 aAB	1,00 aA
SFT	12,47 aAB	11,86 aABC	15,59 aB	0,47 bAB	1,47 aA	0,99 aA
GAFSA	4,99 aBC	7,12 aBCD	4,03 aC	0,67 bAB	1,15 aA	0,71 abAB
ITAFOS	0,53 aC	0,50 aCD	0,94 aC	0,28 aB	0,33 aBC	0,39 aB
SFT+GAFSA	17,39 aA	18,77 aA	15,89 aB	0,54 aAB	0,39 aBC	0,49 aAB
SFT+ITAFÓS	19,11 bA	13,81 bAB	31,56 aA	0,18 aB	0,31 aC	0,53 aAB

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

Na Tabela 5.6, são apresentados os dados do desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação para pH da rizosfera (pHR). Na ausência de inoculação SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós resultaram em pHR mais ácido em relação ao controle, sem inoculação. Na inoculação de GN 2214, o Itafós apresentou pHR mais ácido que as demais fontes, sendo estatisticamente igual ao SFT. Na inoculação da estirpe P21, não houve diferença significativa entre fontes de P. Apesar de não significativo, a combinação de SFT com os fosfatos naturais proporcionou variação de até 0,5 unidades para baixo em relação aos fosfatos naturais isoladamente aplicados. Esta variação pode aumentar a eficiência agrônômica relativa dos fosfatos naturais, aumentando a solubilização do P inorgânico à solução do solo.

Entre os níveis de inoculação, GN 2214 proporcionou pHR mais ácido que o controle e P21 quando utilizada a fonte de fosfato Itafós. Na fonte SFT+Itafós, a não inoculação resultou em menor pHR, em relação ao P21. Jing et al. (2010), relataram que a acidez da rizosfera diminuiu ao longo do crescimento do milho num solo não fertilizado, sendo 4,8 aos 26 DAS (dias após semeadura) e 5,5

aos 51 DAS. Segundo Liu et al. (2004), o pHR diminuiu significativamente no tratamento P-deficiente, e identificou-se que a demanda de P induziu a liberação de H^+ ao longo de toda a superfície radicular. Gahoonia e Nielsen (1992), observaram que a quantidade total das frações de P analisadas foram 20% maiores com o decréscimo do pHR em relação ao constante pH ou acréscimo de pH.

Tabela 5.6. Desdobramento da interação entre fontes de P e níveis de inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* para pH da rizosfera (pHR).

FONTES DE P	pHR		
	SEM	GN 2214	P21
CONTROLE (sem P)	5,51 aA	5,38 aA	5,29 aA
SFT	4,91 aB	4,84 aBC	4,84 aA
GAUSA	5,06 aAB	5,10 aAB	5,06 aA
ITAFOS	5,32 aAB	4,51 bC	5,33 aA
SFT+GAUSA	4,84 aB	5,02 aAB	4,90 aA
SFT+ITAFÓS	4,84 bB	5,08 abAB	5,30 aA

Medias seguidas de mesma letra, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem pelo teste de Tukey a $p < 0,01$.

Raízes de milho liberam íons H^+ , devido aos ácidos cítrico e málico, os quais acidificam a rizosfera (ZOYSA; LOGANATHAN; HEDLEY, 1998; RAMIREZ; FERNANDEZ; LIZASO, 2001), sendo que parte destes prótons são usados na dissolução de fosfatos de rocha (RAMIREZ; LIZASO, 2006). Assim, as fontes que apresentaram pHR mais ácidos proporcionaram maiores condições de disponibilização de P à planta. Algumas plantas podem mudar diretamente as condições da rizosfera para ter acesso às reservas de P do solo indisponíveis (JONES, 1998), sendo que a solubilidade dos nutrientes e sua absorção pela raiz são criticamente afetadas pelo pHR (RÖMHELD, 1986). A aplicação de SFT isolado e combinado com os fosfatos naturais resultaram na acidificação do pHR, em relação ao controle. O decréscimo no pHR pode ter sido devido à formação de ácido fosfórico gerado pela hidrólise do fosfato (BRAGA; AMARAL, 1971). Este efeito de acidificação do pH, na aplicação conjunta de SFT com fosfatos naturais pode ser uma prática viável para aumentar a solubilização destes fertilizantes.

Na inoculação de GN 2214, a produção de ácidos orgânicos produzidos pela RPCPs podem ter sido o motivo da acidificação do pHR. Esta é a principal característica responsável pela solubilização de P inorgânico para as plantas (CATTELAN; HARTEL, 2000).

Na fonte SFT+Itafós, o pHR mais ácido para a não inoculação em relação à P21, pode ser devido ao efeito acidificante da fonte solúvel e devido à incompatibilidade das rizobactérias com o fosfato Itafós.

A presença do P solúvel nos tratamentos SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós foi determinante para as plantas atingirem as maiores médias para AR, DR, CR, VR e MSR. As combinações de SFT com fosfatos naturais proporcionaram incrementos consideráveis em relação à aplicação dos fosfatos naturais isolados.

As estirpes GN 2214 e P21 apresentaram capacidade de promoção de crescimento e de solubilização do P inorgânico em camadas mais profundas. A inoculação de P21 proporcionou expressiva promoção de VR na fonte SFT+Itafós.

Há a necessidade de estudos mais específicos destas rizobactérias em diferentes condições. Existe um grande potencial do uso destes inoculantes na agricultura. Esta prática está crescendo no Brasil, e poderá ser uma forma adicional para se obter as máximas produções dos sistemas agrícolas de produção.

5.4 CONCLUSÃO

As fontes SFT, SFT+Gafsa e SFT+Itafós proporcionaram maior desenvolvimento radicular das plantas de milho.

O fosfato natural de Gafsa favoreceu o AR, DR e VR em relação ao fosfato natural Itafós.

A aplicação de SFT promove a acidificação do solo, além de proporcionar menor pH da rizosfera quando isolado e associado às fontes naturais.

Na extração de P por Mehlich-1, os teores de PS para SFT+Gafsa e SFT+Itafós foram inferiores que o PS dos fosfatos naturais aplicados isoladamente.

As estirpes GN 2214 e P21 possuem a capacidade em aumentar o diâmetro das raízes de milho na camada 10-20 cm, e P21 em incrementar o volume radicular na camada 30-40 cm, quando associado à SFT+Itafós.

5.5 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.

ANGHINONI, I. BARBER, S. A. Phosphorus influx and growth characteristics of corn roots as influenced by phosphorus supply. **Agronomy Journal**, Madison, v.72, p.685-688, 1980.

ARCAND, M. M.; SCHNEIDER, K. D. Plant- and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.78, p.791-807, 2006.

BARNES, J.S.; KAMPRATH, E.J. **Availability of North Carolina rock phosphate applied to soils**. Raleigh: North Carolina State University, 1975. 23p. (Agricultural Experiment Station. Technical bulletin, 229).

BATISTA, M. A. et al. Mineral composition and dry mass production of the corn plants in response to phosphorus sources and aluminum concentration. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.52, n.3, p.541-548, 2009

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.

BRAGA, N. R. et al. Eficiência agronômica de nove fosfatos em quatro cultivos consecutivos de soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.15, p.315-319, 1991.

BRAGA, J. M.; AMARAL, F. A. Efeito de fontes de fósforo na variação de pH e disponibilidade de fósforo, cálcio e magnésio. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 17, p. 325-335, 1971.

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.

CARLIER, E. et al. Improvement of growth, under field conditions, of wheat inoculated with *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* SR1. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, New York, v.244, p.2653-2658, 2008.

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.; 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.932-939, 1978.

CHIEN, S. H.; MENON, R. G. Factors affecting the agronomic effectiveness of phosphate rock for direct application. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** (Antiga Fertilizer Research), Dordrecht, v.41, p.227-234, 1995.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 1º ed., Brasília, 1999. 370p.

ESITKEN, A. et al. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.124, n.1, p.62-66, 2010.

FRANZINI, V. I.; MURAOKA, T.; MENDES, F. L. Ratio and rate effects of ³²P-triple superphosphate and phosphate rock mixtures on corn growth. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.66, n.1, p.71-76, 2009.

GAHOONIA, T. S.; NIELSEN, N. E. The effects of root-induced pH changes on the depletion of inorganic and organic phosphorus in the rhizosphere. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.143, p.183-191, 1992.

GAMALERO, E. Morphogenetic modifications induced by *Pseudomonas fluorescens* A6RI and *Glomus mosseae* BEG12 in the root system of tomato differ according to plant growth conditions. **New Phytologist**, v.155, n.2, p.293-300, 2002.

GOEDERT, W. J.; LOBATO, E. Eficiência agronômica de fosfatos em solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.15, n.3, p.311-318, 1980.

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.

HARTHMANN, 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.

IBRIKÇI, H. et al. Genotypic responses of corn to phosphorus fertilizer rates in calcareous soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.40, n.9-10, p.1418-1435, 2009.

KAMINSKI, J.; PERUZZO, G. **Eficácia de fosfatos naturais reativos em sistemas de cultivo**. Santa Maria, Núcleo Regional Sul da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1997. 31p. (Boletim Técnico No.3)

KHASAWNEH, F. E.; DOLL, E. C. The use of phosphate rock for direct application to soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.30, p.159-207, 1978.

KIRCHHOF, G.; PENDAR, K. **Delta-T Scan: user manual**. 1993. Delta-T Devices Ltd. Cambridge, 1993. 260p.

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.

JEON, J. S. et al. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. **Journal of Microbiology**, Seoul, v.41, n.4, p.271-276, 2003.

JING, J. et al. Localized application of phosphorus and ammonium improves growth of maize seedlings by stimulating root proliferation and rhizosphere acidification. **Field Crops Research**, v.119, n.2-3, p.355-364, 2010.

JONES, D. L. Organic acids in the rhizosphere – a critical review. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.205, p.25-44, 1998.

LALANDE, R. et al. Identification of rhizobacteria from maize and determination of their plant-growth promoting potential. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.115, p.7-11, 1989.

LEHR, J. R.; McCLELLAN, G. H. **A revised laboratory reactivity scale for evaluating phosphate rocks for direct application**. Muscle Shoals: International Fertilizer Development Center, 1972. 36p. (Bulletin, Y-43)

LOPER, J. E.; ISHIMARU, C. A. Factors influencing siderophore-mediated biocontrol activity of rhizosphere *Pseudomonas* spp. **Kluwer Academic Publishers**, p.253-261, 1991.

LIU, Y. et al. 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

MARSCHNER, H. The soil-root interface (rhizosphere) in relation to mineral nutrition. In: MASCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**, 2. University of Hohenheim. Germany. Academic Press, 1995a, p.537-594.

MARSCHNER, H. Rhizosphere pH effects on phosphorus nutrition. In: **Genetic manipulation of crop plants to enhance integrated nutrient management in cropping systems**, 1. Phosphorus: proceedings of an FAO/ICRISAT Expert Consultancy Workshop, ICRISAT Asia Center, India. 15-18. 1995b, p.107-115.

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.

NAIMAN, A. D.; LATRÓNICO, A.; SALAMONE, I. E. G. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impact on the production and culturable rhizosphere microflora. **European Journal of Soil Biology**, v.45, n.1, p.44-51, 2009.

NYE, P. H.; KIRK, G. J. D. The mechanism of rock phosphate solubilization in the rhizosphere. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.100, p.127-134, 1987.

OLIVEIRA, C. A. et al. **Microrganismos solubilizadores de fosfato isolados da rizosfera de genótipos de milho em plantio direto e convencional**. Sete Lagoas, MG, 2008. ISSN 1679-0154, 2p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Nº 04)

PIAIA, F. L. et al. Eficiência da adubação fosfatada com diferentes fontes e saturações por bases na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.3, p.488-499, 2002.

PROCHNOW, L. I.; ALCARDE, J. C.; CHIEN, S. H. Eficiência agronômica dos fosfatos totalmente acidulados. In: In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA. Piracicaba, 2004. **Anais**. Piracicaba, Potafos/Anda, 2004. 605-664p.

RAIJ, B. V. Métodos de diagnose de fósforo no solo em uso no Brasil. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA. Piracicaba, 2004. **Anais**. Piracicaba, Potafos/Anda, 2004. p.563-588

RAMIREZ, R.; LIZASO, J. I. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.37, p.1917-1931, 2006.

RAMIREZ, R.; FERNANDEZ, S. M.; LIZASO, J. I. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.32, n.9-10, p.1551-1565, 2001.

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.

RÖMHELD, V. **pH changes in the rhizosphere of various crop plants, in relation to the supply of plant nutrients**: Potash Review. International Potash Institute, Berne, Switzerland, 1986. (Communication No. 12)

ROSAS, S. B. et al. Root colonization and growth promotion of wheat and maize by *Pseudomonas aurantiaca* SR1. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.41, n.9, p.1802-1806, 2009.

ŞAHİN, F.; ÇAKMAKÇI, R.; KANTAR, F. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.265, n.1-2, p.123-129, 2004.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. **Plant Physiology**. 4 ed. Belmont: Wadsworth, 1992. 682p.

SCHENK, M. K.; BARBER, S. A. Root characteristics of corn genotypes as related to P uptake. **Agronomy Journal**, Madison, v.71, p.921-924, 1979.

SEMENTES BALU. Disponível em: <<http://www.sementesbalu.com.br/>>. Acesso em 10 fev. 2011.

SILBY, M. W. et al. Genomic and genetic analyses of diversity and plant interactions of *Pseudomonas fluorescens*. **Genome Biology**, v.10, 2009. Artigo online: <<http://genomebiology.com/2009/10/5/R51>>.

SOTTERO, A. N. **Colonização radicular e promoção de crescimento vegetal por rizobactérias**. 2003. 62f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2003.

SOUZA, E. C. A. et al. Respostas do milho à adubação com fósforo e zinco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, p.1031-1036, 1998.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Adubação fosfatada em solos da região do cerrado**. Potafós - Piracicaba-SP, n.102, 2003, 16p. (Encarte Técnico – Informações Agronômicas)

ZAGO, V.C.P.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N.G. ***Pseudonomas spp. Fluorescentes*** – Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontroladoras de fitopatógenos em sistemas de produção agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 32p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 127).

ZOYSA, A. K. N.; LOGANATHAN, P.; HEDLEY, M. J. Phosphate rock dissolution and transformation in the rhizosphere of tea (*Camellia sinensis* L.) compared with other plant species. **European Journal of Soil Sciences**, v.49, p.477-486, 1998.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença do fosfato solúvel, tanto de forma isolada como de forma conjunta com os fosfatos naturais, proporcionou melhores condições para o desenvolvimento das plantas de milho. Sendo que, proporcionou maiores efeitos no solo escasso de P.

O fosfato de Gafsa quando aplicado isolado proporcionou melhores resultados em diferentes variáveis em relação ao fosfato Itafós.

A inoculação de RPCPs (Estirpes 1008, GN 2214 e P21) apresentaram capacidade na promoção de biomassa: promoveram a AP, AIE, MSPA, MSR, MST, DR, VR, constituindo uma prática importante que pode contribuir para os sistemas de produção das culturas. A inoculação da estirpe 1008 no controle resultou em 87% de EAR, apresentando resultado superior que os fosfatos naturais aplicados individualmente e com o SFT. Este resultado representa o potencial desta rizobactéria em solos com P intermediário. Há a necessidade de maiores estudos em diferentes condições.

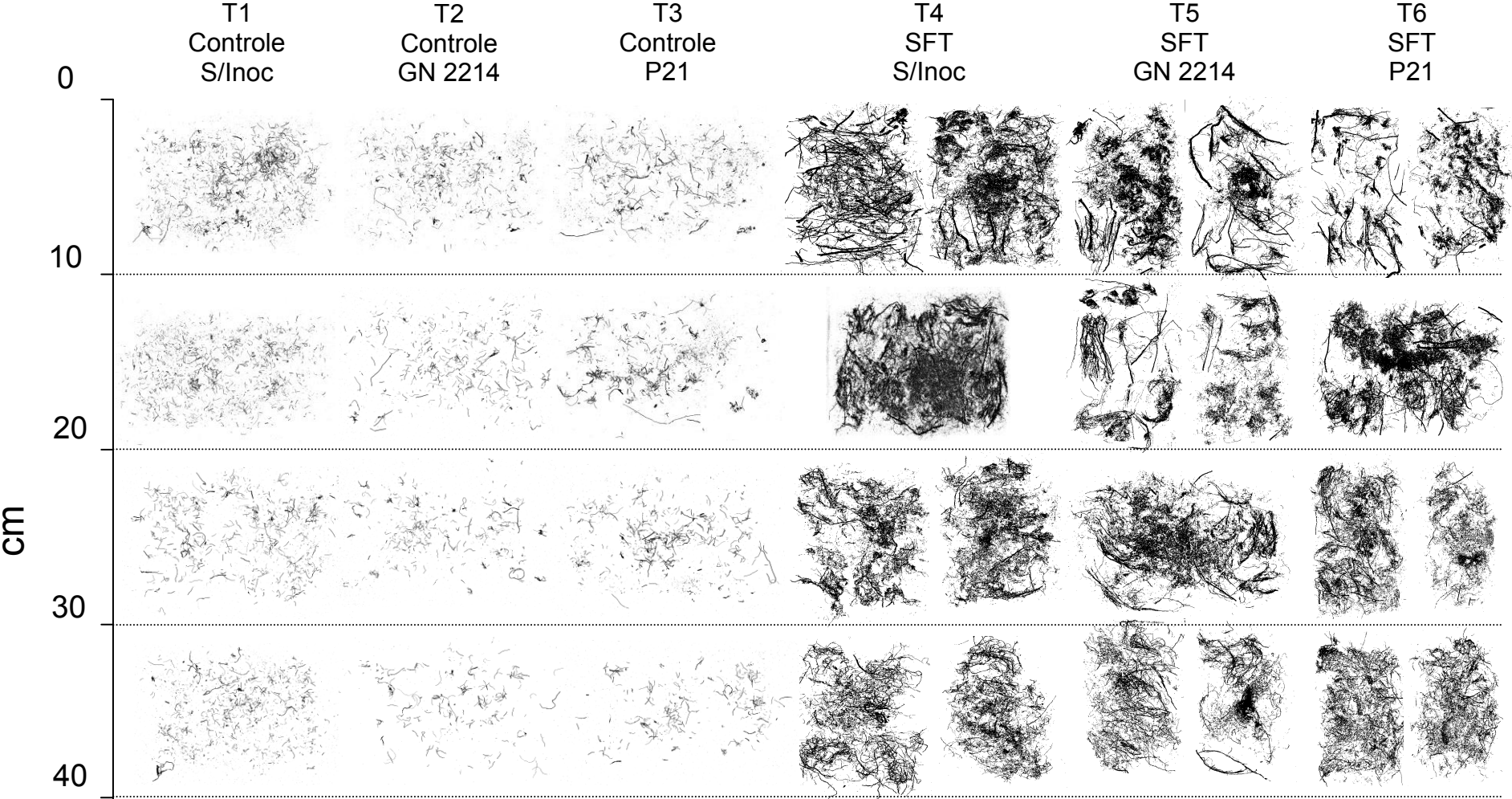
A aplicação de SFT promove a acidificação do solo, além de proporcionar menor pH da rizosfera quando isolado e associado aos fosfatos naturais.

A combinação do fosfato solúvel com fosfatos naturais constituiu-se como uma nova opção para a utilização do P na correção da disponibilidade deste elemento no solo, e da menor utilização de fosfatos acidulados nos sistemas de produção agrícolas.

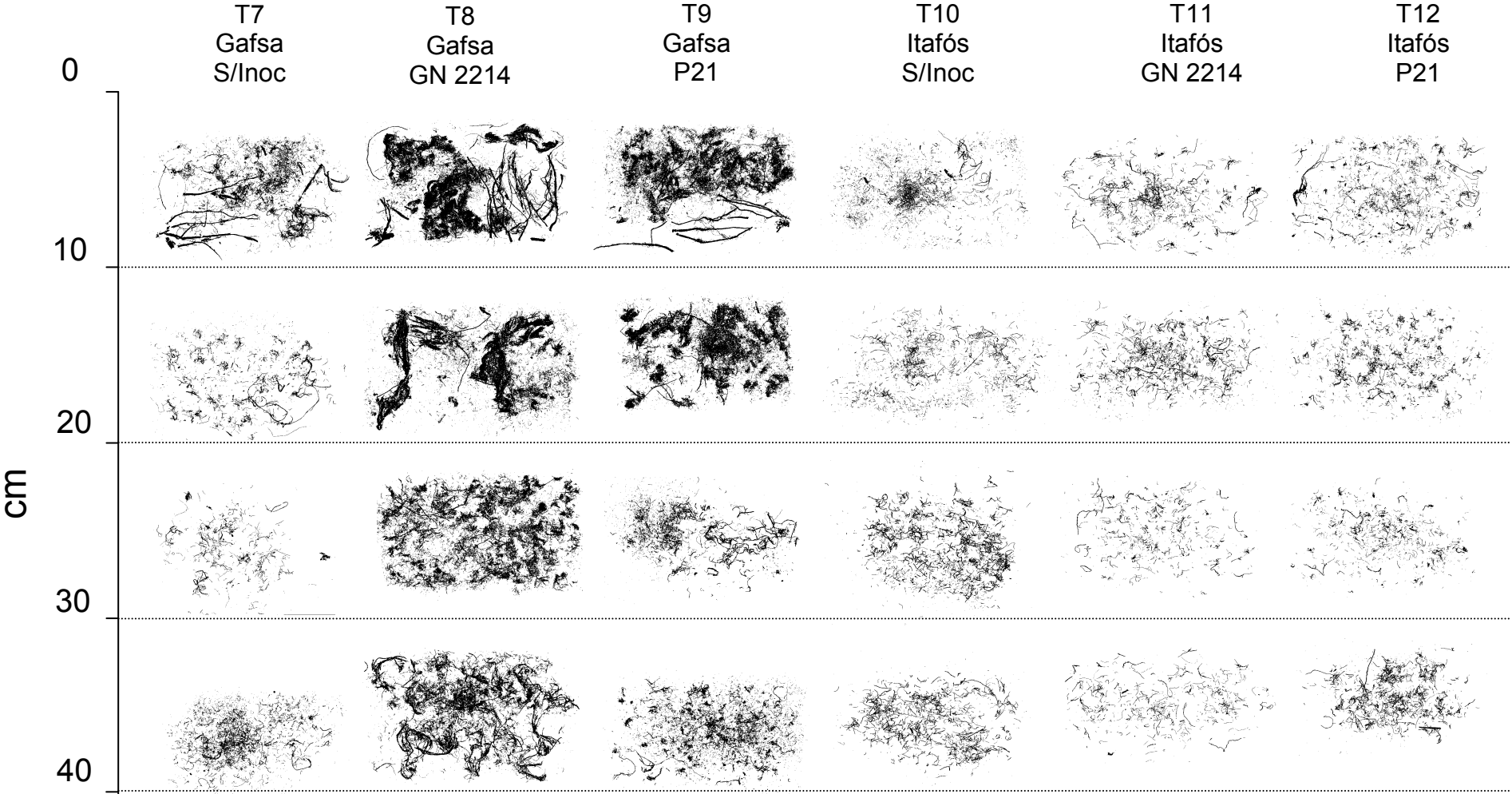
APÊNDICES

APÊNDICE A - Figuras das Raízes de Milho nas camadas 0-10, 10-20, 20-30 e 30-40 cm.

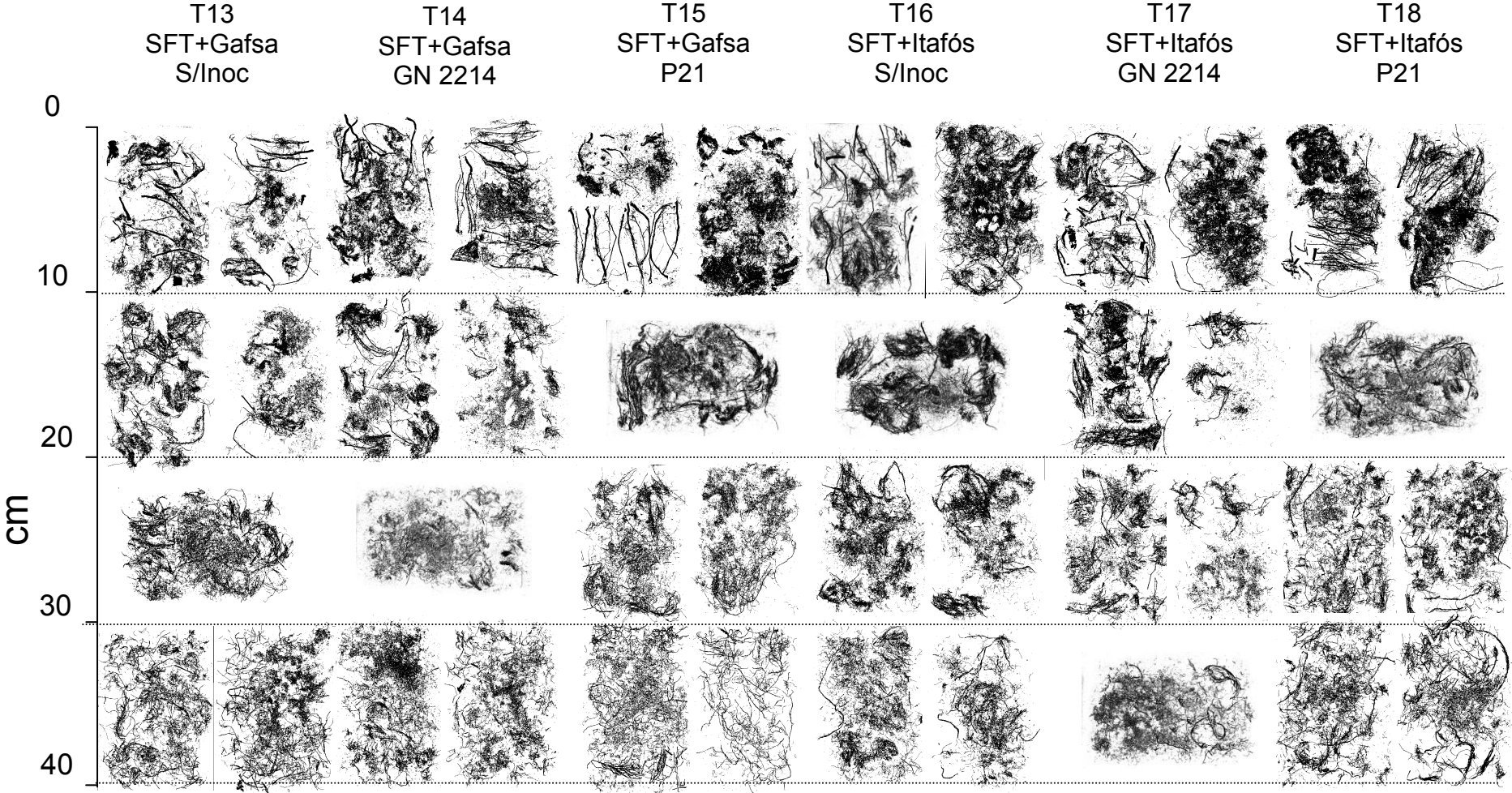
Apêndice A.1 – Imagens formadas ao serem escaneadas para avaliações radiculares pelo programa Delta-T Scan (T1 a T6)



Apêndice A.2 – Imagens formadas ao serem escaneadas para avaliações radiculares pelo programa Delta-T Scan (T7 a T12)



Apêndice A.3 – Imagens formadas ao serem escaneadas para avaliações radiculares pelo programa Delta-T Scan (T13 a T18)



APÊNDICE B – Sintomas de deficiência de P (30 DAE)**Apêndice B.1 - T3-Control + P21****Apêndice B.2 – T7-Gafsa + GN 2214****Apêndice B.3 – T10-Itafós S/Inoc****Apêndice B.4 - T12-Itafós + P21**

APÊNDICE C – Final do Experimento



Apêndice C.1 – Controle: S/Inoc, GN2214 e P21



Apêndice C.2 – Itafós: S/Inoc, GN2214 e P21



Apêndice C.3 – SFT: S/Inoc, GN 2214 e P21



Apêndice C.4 – Gafsa: S/Inoc, GN 2214 e P21



Apêndice C.5 – SFT+Gafsa: S/Inoc, GN 2214 e P21



Apêndice C.6 – SFT+Itafós: S/Inoc, GN 2214 e P21



**Apêndice C.7 – (SFT,
Gafsa e Itafós) S/Inoc**



**Apêndice C.8 – (SFT,
Gafsa e Itafós) + GN
2214**



**Apêndice C.9 – (SFT,
Gafsa e Itafós) +P21**



**Apêndice C.10 – SFT,
SFT+Gafsa e SFT+Itafós:
S/Inoc**



**Apêndice C.11 – SFT,
SFT+Gafsa e SFT+Itafós:
GN 2214**



**Apêndice C.12 – SFT,
SFT+Gafsa e SFT+Itafós:
P21**

APÊNDICE D – Desmonte dos vasos



Apêndice D.1 – Desmonte T1 – Controle S/Inoc



Apêndice D.2 – Canos serrados para o auxílio do desmonte e para o tombamento das colunas



Apêndice D.3 – Distribuição radicular no perfil 0-40 cm (T12-Itafós + P21)



Apêndice D.4 – Distribuição radicular no perfil 0-40 cm (T7-Gafsa S/Inoc)

**APÊNDICE E – Separação radicular do perfil da camada 0-40 cm
(T8-Gafsa+GN2214)**



Apêndice E.1 – Coluna de solo sendo desmontada



Apêndice E.2 – Distribuição radicular no fundo da coluna



Apêndice E.2 – Separação radicular da camada 0-10 cm



Apêndice E.3 – Separação radicular da camada 10-20 cm



Apêndice E.4 – Separação radicular da camada 20-30 cm



Apêndice E.5 – Separação radicular da camada 30-40 cm

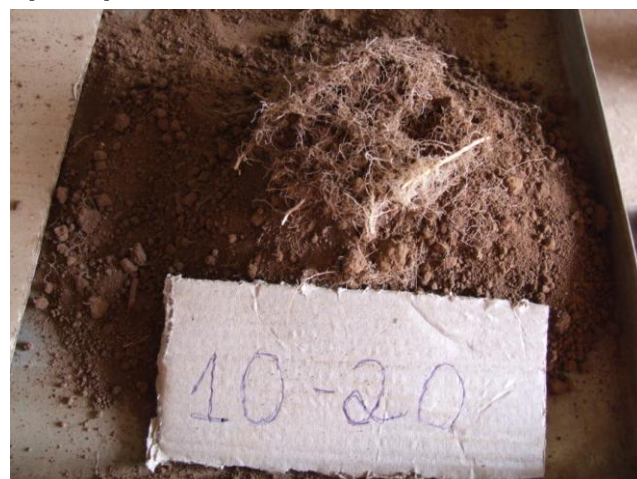
**APÊNDICE F – Separação radicular do perfil da camada 0-40 cm
(T13-SFT+Gafsa S/Inoc)**



Apêndice F.1 – Distribuição radicular pelo perfil T13-SFT+Gafsa S/Inoc



Apêndice F.2 – Separação radicular da camada 0-10 cm



Apêndice F.3 – Separação radicular da camada 10-20 cm



Apêndice F.4 – Separação radicular da camada 20-30 cm



Apêndice F.5 – Separação radicular da camada 30-40 cm

VITA

Danilo Pinceli Chaves, filho de Manoel Márcio Chaves e Neusa Maria Pinceli Chaves, nasceu em 19 de junho de 1986, em Cascavel, Paraná.

Ingressou na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Marechal Cândido Rondon-PR, em 2004, graduando-se em 2008.

Realizou estágios com genética de milho e UBS (Coodetec – Cascavel-PR, 2005), análises foliar, química e física do solo (Esalq – Piracicaba-SP, 2006), fazenda (Coodetec – Cascavel-PR, 2007), multiplicação de linhagens de milho e UBS (Coodetec – Cascavel-PR, 2008), plantas daninhas (Embrapa Soja - Londrina-PR, 2008) e fertilidade do solo (Embrapa Soja – Londrina-PR, 2010/11).

Em 2009 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia pela Universidade Estadual de Londrina, o qual foi concluído em 2011.