



Bento Gonçalves - RS

## Avaliação do crescimento de milho co-inoculado com microrganismos solubilizadores de fósforo, fungos micorrízicos e *Azospirillum*

Fabício Nascimento Ferreira<sup>(1)</sup>, Vitória Palhares Ribeiro<sup>(2)</sup>, Isabelle Gonçalves Melo<sup>(2)</sup>, Ivanildo Evódio Marriel<sup>(3)</sup>, Francisco Adriano de Souza<sup>(3)</sup>, Christiane Abreu de Oliveira<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>Bolsista CNPq/ Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 285, 35701-970, Sete Lagoas, MG· [fabricionascimento92@hotmail.com](mailto:fabricionascimento92@hotmail.com)

<sup>(2)</sup>Mestranda em Bioengenharia, Universidade Federal de São João Del Rei, São João Del Rei, MG

<sup>(3)</sup>Pesquisador (a) Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 285, 35701-970, Sete Lagoas, MG

**RESUMO:** Microrganismos do solo têm sido usados como biofertilizantes por aumentarem a aquisição de nutrientes em culturas de grãos. Entretanto os produtos inoculantes gerados contêm, na maioria das vezes, um tipo de microrganismos com funcionalidade específica. O uso combinado de microrganismos com diferentes funcionalidades (co-inoculação) tem tido destaque, devido ao efeito sinérgico no aumento de produção em algumas culturas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da co-inoculação de microrganismos solubilizadores de fósforo (*Bacillus* sp.), fungos micorrízicos e *Azospirillum* no cultivo de milho adubado com fontes de fósforo de diferente solubilidade. Foram utilizados 25 tratamentos provenientes da combinação de 4 tipos de inoculação e 3 fontes de P e o controle não inoculado e sem adubação fosfatada. Como inoculantes, foram utilizados dois microrganismos solubilizadores de fosfato; dois *Azospirillum* e dois fungos micorrízico arbuscular co-inoculados ou não. As fontes de P foram: fosfato de rocha Araxá; superfosfato triplo e a mistura das duas fontes. A inoculação com os 3 tipos de inoculantes proporcionou maior altura da planta de milho adubado com fosfato de araxá. Quanto ao aumento da biomassa de milho, somente a inoculação com o inoculante E1 (*Bacillus*) foi eficiente na presença de meia dose - ST+ FA. Há potencial da combinação destes microrganismos estudados com funcionalidades diversas para o aumento do crescimento de plantas. Futuramente se avaliará o acúmulo de nutrientes na planta de milho e o efeito em testes de campo.

### INTRODUÇÃO

Para alcançar uma produtividade de grãos satisfatória nas regiões de cerrado, é necessário corrigir a carência de fósforo através da utilização de fertilizantes. Dentre as opções de fonte de P disponíveis no mercado, os fertilizantes fosfatados totalmente acidulados ocupam posição de destaque, sendo frequentemente utilizados para a correção do solo (PROCHNOW et al., 2004). No entanto, o uso crescente de adubos fosfatados solúveis reduz a sustentabilidade e ameaça a segurança ambiental das culturas brasileiras. Em virtude disso, a busca por produtos que proporcionem à agricultura brasileira uma maior autonomia no mercado mundial de insumos tem aumentado. Os microrganismos são alternativas atrativas e comprovadamente prováveis para vários usos como substitutos parciais ou absolutos de insumos químicos (OGBO, 2010; VASSILEV et al., 2009) em gramíneas.

Muitos microrganismos do solo têm sido usados como biofertilizantes em plantas cultivadas de forma isolada ou em interação (Bagyaraj et al. 2015). O uso conjunto de microrganismos solubilizadores de fósforo (MSP) e fungos micorrízicos (FMA), promoveu efeito sobre o crescimento das plantas de milho quando as MSP *Agrobacterium* sp. e *Pseudomonas* sp. foram inoculadas nas sementes de milho tratadas com fungos micorrízicos. Esta co-inoculação resultou em aumento de matéria seca e absorção de fósforo. Em razão disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da co-inoculação de microrganismos solubilizadores de P (MSP), *Azospirillum* (AZO) e fungo micorrízico (FMA) no cultivo de milho adubado com fontes de P de diferente solubilidade.

**Termos de indexação:** inoculantes multifuncionais, biossolubilização de fosfato, *Penisetum glaucum*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas/MG (19°28'S e 44°15'W), com sementes de milheto (*Pennisetum glaucum*), variedade BRS 1501, em vasos de 5kg. O substrato dos vasos foi composto de solo de cerrado natural não desinfestado. Foram utilizados 25 tratamentos combinados com 4 tipos de inoculação e 3 tipos de adubação fosfatada além de um tratamento controle sem fósforo. Como inoculantes, foram utilizados dois *Bacillus* sp microrganismos solubilizadores de fosfato (E1); duas cepas de *Azospirillum* E11; *Azospirillum* 2146 (E2) e duas cepas de fungo micorrízico arbuscular (E3). Estes microrganismos pertencem à coleção de microrganismos de Embrapa Milho e Sorgo. Foram adicionados 4 tratamentos como controle, onde não foi adicionado adubação fosfatada (PO) e nem inoculante (EO). Os tipos de adubação fosfatada foram fontes de P com diferentes graus de solubilidade de P: fosfato de rocha Araxá (FA); superfosfato triplo (ST) e a mistura das duas fontes (ST+FA).

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

Aos dez dias após a semeadura, efetuou-se o desbaste, deixando-se 8 a 10 plantas por vaso. Na coleta, aos 40 dias após a germinação, na fase de florescimento, mediu-se a altura de plantas (m) e foi feita a coleta da parte aérea e do solo para avaliação do peso seco e análise de macro e microelementos.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados por meio do teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa de estatística SISVAR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu diferença estatística entre os valores de altura de plantas nos tratamentos inoculados com as 3 estirpes (FA+E1+E2+E3) com relação ao controle não inoculado (FA+E0) quando o milheto foi adubado com FA (Figura 1). Vários outros trabalhos também relatam a interação entre inoculantes contendo MSP, fungos micorrízicos e diazotróficos, como *Azospirillum*, por exercerem ações cooperativas (Barea et al., 2005; Bagyaraj 2014) promovendo o crescimento. Outros relatam o efeito combinado de biofertilizantes contendo MSP, FMA e diazotróficos como *Azospirillum* em milho (Wu et al., 2005; Mohamed et al., 2014), com relação ao aumento da biomassa e produção de grãos.

Neste trabalho, somente a inoculação com o inoculante E1 (*Bacillus* solubilizador de fosfato) promoveu o aumento da biomassa de milheto de forma significativa na presença de meia dose dos fertilizantes (ST+FA), em relação ao tratamento sem inoculação (E0). Entretanto, não ocorreu diferença significativa no teste de média para os valores de acúmulo de massa seca (Figura 2) entre os tratamentos inoculados e não inoculados, de milheto adubado com FA. O menor valor de peso seco (0,85g/vaso) ocorreu no tratamento controle sem fósforo e o maior valor em milheto adubado com ST e inoculado com E1 (52,6g/vaso). Em condições de menor disponibilidade de P, com a adubação fosfatada com o fosfato de rocha araxá (FA), ocorreram ganhos expressivos de massa seca da parte aérea da planta de milheto de até 70% em relação ao tratamento controle não inoculado, nos tratamentos com inoculação de E3 e E2. E de 61,7% na co-inoculação com os 3 tipos de inoculantes (E1+E2+E3) e de 59,6% com E1 +E3.

A co-inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfato e *Azospirillum*, proporcionou menor ganho de peso seco dentre as combinações avaliadas (17%). Na aplicação do inoculante de forma isolada, dentre os 3 tipos de inoculantes, o fungo micorrízico parece ter estimulado mais o crescimento do milheto, quando este foi adubado com fonte de P de baixa solubilidade (FA). Ocorreram aumentos de massa seca da parte aérea de 47,3% em relação ao controle não inoculado com a inoculação de E3 e de 33% e 13% na inoculação com E1 e E2 respectivamente.



Bento Gonçalves - RS

## CONCLUSÕES

A co-inoculação com *Azospirillum*, *Bacillus* solubilizador de fosfato e fungos micorrízicos, proporcionou maior altura da planta de milho adubado com fosfato de araxá. Quanto ao aumento da biomassa de milho, somente a inoculação com o inoculante E1 (*Bacillus*) foi eficiente na presença de meia dose - ST+ FA.

## AGRADECIMENTOS

A Fapemig, ao CNPq, pelos recursos financeiros. A Embrapa Milho e Sorgo pela infraestrutura e para a execução do trabalho.

## REFERÊNCIAS

BAGYARAJ, D. J.; SHARMA, M. P.; MAITI, D. Phosphorus nutrition of crops through arbuscular mycorrhizal fungi. **Current Science**, Bangalore, v. 108, n. 7, p. 1288-1293, 2015.

BAREA, J. M.; POZO, M. J.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 417, p. 1761-1778, 2005.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

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

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

PROCHNOW, L. I.; ALCARDE, J. C.; CHIEN, S. H. Eficiência agronômica dos fosfatos totalmente acidulados. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. **Fósforo na**

**agricultura brasileira**. Piracicaba: Potafos, 2004. p. 605-663.

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

VASSILEV, S. V.; BAXTER, D.; ANDERSEN, L. K.; VASSILEVA, C. G. An overview of the chemical composition of biomass. **Fuel**, London, v. 89, n. 5, p. 913-933, 2010.

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



Bento Gonçalves - RS

**Figura 1.** Altura de planta de milho nos tratamentos com microrganismos solubilizadores de fosfato (E1); *Azospirillum* (E2) e fungo micorrízico arbuscular (E3), combinação dupla (E1+E2; E1+E3; E2+E3), tripla (E1+E2+E3) e tratamentos controle, onde não foi adicionado adubação fosfatada (PO) e nem inoculante (EO). As fontes de fósforo: fosfato de rocha Araxá (FA); superfosfato triplo (ST) e a mistura das duas fontes (ST+FA). Valores médios de 4 repetições seguidos de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de média Scott Knot,  $p > 0,05$ .



Bento Gonçalves - RS

**Figura 2.** Matéria seca da parte aérea de milho (g) nos tratamentos com microrganismos solubilizadores de fosfato (E1); *Azospirillum* (E2) e fungo micorrízico arbuscular (E3), combinação dupla (E1+E2; E1+E3; E2+E3), tripla (E1+E2+E3) e tratamentos controle, onde não foi adicionado adubação fosfatada (PO) e nem inoculante (EO). As fontes de fósforo: fosfato de rocha Araxá (FA); superfosfato triplo (ST) e a mistura das duas fontes (ST+FA). Valores médios de 4 repetições seguidos de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de média Scott Knot,  $p > 0,05$ .