

Bactérias solubilizadoras de fosfatos inorgânicos aumentam o crescimento e o acúmulo de nutrientes em plantas de arroz⁽¹⁾

Elaine Martins da Costa⁽²⁾; Wellington de Lima⁽³⁾; Silvia Maria de Oliveira-Longatti⁽⁴⁾; Fatima Maria de Souza Moreira⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do CNPq, CAPES e FAPEMIG; ⁽²⁾ Bolsista de doutorado do CNPq, Departamento de Ciência do Solo (DCS), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, elainemartins20@hotmail.com; ⁽³⁾ Estudante de graduação em Agronomia, bolsista Jovens Talentos/CAPES, DCS, UFLA, tomdelima@yahoo.com.br; ⁽⁴⁾ Pós-doutoranda, bolsista PNPd/CAPES, DCS, UFLA, sylmaria@yahoo.com.br; ⁽⁵⁾ Professora titular do DCS e bolsista de produtividade 1A do CNPq, UFLA, fmoreira@dcs.ufla.br

RESUMO: O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos principais cereais cultivados no Brasil. Inoculações com bactérias solubilizadoras de fosfatos inorgânicos (BSFI) associadas a fosfatos naturais (FN) representam uma importante estratégia para melhorar a nutrição e o crescimento dessa cultura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e o acúmulo de nutrientes em plantas de arroz inoculadas com estirpes de BSFI combinadas com fosfato natural (FN) Bayóvar em vasos com um Latossolo Vermelho Amarelo. O experimento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições e 12 tratamentos: inoculação individual de cinco estirpes de BSFI (UFLA 04-21, UFLA 04-155, UFLA 03-10, UFPI B5-6 e UFPI B5-8A) em vasos contendo FN Bayóvar, um controle com FN Bayóvar sem inoculação, cinco concentrações de fósforo (P) solúvel (50, 100, 150, 200 e 250 mg P₂O₅ dm⁻³) aplicadas na forma NH₄H₂PO₄ e um controle sem a adição de P e sem inoculação. As estirpes UFLA 04-21 (*Burkholderia* sp.), UFLA 03-10 (*Paenibacillus kribbensis*), UFPI B5-6 (*Enterobacter* sp.) e UFPI B5-8A (*Pseudomonas* sp.) aumentaram a produção de matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz e total, número de perfilhos e o acúmulo de fósforo, nitrogênio, cálcio, magnésio, enxofre e boro em relação ao tratamento com FN Bayóvar sem inoculação. Essas quatro estirpes promoveram MSPA equivalentes a cerca de 60% em relação ao tratamento com 150 mg dm⁻³ de P solúvel, indicando o potencial das mesmas para serem utilizadas como inoculantes na cultura do arroz.

Termos de indexação: *Oryza sativa* L., rizobactérias promotoras do crescimento de plantas, fosfato natural Bayóvar.

INTRODUÇÃO

O fósforo (P) é um dos nutrientes mais limitantes ao desenvolvimento das culturas em solos tropicais devido a sua complexa dinâmica. Além do baixo teor natural disponível para as plantas, a maior parte do P aplicado ao solo fica retida em suas partículas devido às reações de precipitação e adsorção. Com a possibilidade de esgotamento das reservas de rochas fosfáticas mais concentradas e ao alto custo

econômico dos fosfatos solúveis (FSs), vem sendo proposto o uso de fontes alternativas de P, como os fosfatos naturais (FNs), que são de menor custo (Fageria et al., 1991; Dias et al., 2014). No entanto, esses fosfatos apresentam dissolução mais lenta que os FSs, e essa dissolução varia entre os FNs disponíveis. Entre os FNs mais reativos, tem-se o fosfato natural (FN) Bayóvar, o qual é formado pela deposição e decomposição de restos de animais marinhos provenientes da região de Piura, no Peru, e apresenta em sua composição cerca de 28% de P₂O₅ e 31% de cálcio, é insolúvel em água e sua solubilidade em ácido cítrico é em torno de 13%.

Uma importante alternativa para aumentar a eficiência de utilização dos FNs e/ou redução do uso dos FSs é a seleção de bactérias que solubilizam fosfatos inorgânicos insolúveis (BSFI) (Marra et al., 2012; Estrada et al., 2013; Oliveira-Longatti et al., 2014). A atuação dessas bactérias no processo de solubilização pode ser através de diferentes mecanismos, como: produção e liberação de ácidos orgânicos, produção de exopolissacarídeos e produção de sideróforos.

Em solos brasileiros, o arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos principais cereais cultivados, com uma área plantada em torno de 2,43 milhões de hectares e produção de 12 milhões de toneladas (CONAB, 2013). O arroz cultivado sob sistema de sequeiro, apesar de ocupar cerca dois terços da área total cultivada, responde por cerca de um terço da produção nacional. Essa baixa produção deve-se, principalmente, ao fato da maior parte desse cultivo ocorrer em solos do Cerrado que apresentam, em sua maioria, baixa disponibilidade de P.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento e acúmulo de nutrientes em plantas de arroz inoculadas com estirpes BSFI, combinadas com fosfato natural Bayóvar em vasos com Latossolo Vermelho Amarelo.

MATERIAL E MÉTODOS

Nesse estudo foram utilizadas cinco estirpes de BSFI pertencentes à coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA): UFLA 04-21 (*Burkholderia* sp.), UFLA 04-155 (*Burkholderia fungorum*), UFLA 03-10



(*Paenibacillus kribbensis*), UFPI B5-6 (*Enterobacter* sp.) e UFPI B5-8A (*Pseudomonas* sp.).

Antes da instalação do experimento, uma amostra simples do solo de cada vaso foi coletada para formar uma amostra composta e estimar o número de bactérias solubilizadoras de fosfato de cálcio presentes no solo. Foram realizadas diluições seriadas (até 10^{-7}) em solução salina (0,85%) e, posterior, espalhamento em placas com o meio de cultura NBRIP (Nautival, 1999). O número estimado desses organismos foi de $2,1 \times 10^4$ UFC g^{-1} solo.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, entre dezembro de 2013 e março de 2014. Foram utilizados vasos plásticos (4 dm^3) com amostras de um Latossolo Vermelho Amarelo, com baixo teor de P, coletadas na camada 0-20 cm em Lavras-MG. Antes da instalação do experimento, as análises desse solo apresentaram as seguintes características: pH em H_2O 5,4; P (Mehlich 1) $0,84 \text{ mg dm}^{-3}$; K^+ 24 mg dm^{-3} ; Ca^{2+} $1,70 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Mg^{2+} $0,10 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; Al^{3+} $0,10 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; H+Al $2,90 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; soma de bases $1,86 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; CTC efetiva $1,96 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; CTC potencial $4,76 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; saturação por alumínio 5,10%; saturação por bases 39,11%, matéria orgânica $2,11 \text{ dag kg}^{-1}$; argila 73 dag kg^{-1} ; silte 10 dag kg^{-1} e areia 17 dag kg^{-1} . Com base na análise química, foi efetuada a calagem para elevar a saturação por bases a 50% e o solo foi incubado por 40 dias.

O experimento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições e 12 tratamentos: inoculação individual das 5 estirpes de BSFI (UFLA 04-21, UFLA 04-155, UFLA 03-10, UFPI B5-6 e UFPI B5-8A) em vasos com solo contendo fosfato natural Bayóvar ($150 \text{ mg P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$); um controle com o fosfato natural (FN) Bayóvar ($150 \text{ mg P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$) sem inoculação; cinco concentrações de P-solúvel (50, 100, 150, 200 e $250 \text{ mg P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$) aplicadas na forma de fosfato monoamônico (MAP) ($NH_4H_2PO_4$) e um controle sem a adição de P e sem inoculação.

Para todos os tratamentos foi efetuada a seguinte adubação (mg dm^{-3}): 450 de N, 350 de K_2O , 40 de S, 1,5 de Cu, 3,6 de Mn, 5,0 de Zn, 0,8 de B e 0,15 de Mo. Nos cálculos da dose de N foi considerado as quantidades já fornecidas pelo $NH_4H_2PO_4$ nas diferentes concentrações de P. A adubação com N e K foi parcelada em cinco vezes.

Antes do plantio, as sementes de arroz (cultivar BRS-MG Relâmpago) foram desinfestadas utilizando-se álcool etílico a 98% (30 segundos), hipoclorito de sódio a 2% (dois minutos) e, em seguida, submetidas a dez lavagens em água destilada estéril. Foram semeadas 6 sementes por vaso. Oito dias após a emergência, foi realizado o

desbaste para duas plântulas por vaso. Para cada tratamento inoculado, foi adicionado 1 mL do inoculante na concentração mínima de 1×10^8 células bacterianas mL^{-1} sobre cada semente semeada.

A colheita das plantas foi realizada 90 dias após o plantio. O material vegetal foi seco em estufa a 60°C . Foram avaliadas as seguintes variáveis: número de perfilhos por planta (NP), matéria seca da parte aérea (MSPA), da raiz (MSR) e total (MST), além do conteúdo de macro e micronutrientes na parte aérea (Malavolta et al., 1997). Os dados do experimento foram submetidos à análise de variância, empregando-se o programa Sisvar 5.3. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se efeito ($p < 0,05$) dos tratamentos sobre o NP, MSPA, MSR, MST (**Figura 1**) e sobre os acúmulos dos macro e micronutrientes avaliados (**Figura 1**).

Das cinco estirpes avaliadas, quatro (UFLA 04-21, UFLA 03-10, UFPI B5-6 e UFPI B5-8A) foram mais eficientes que as populações nativas de BSFI, promovendo produção de MSPA, MSR, MST e NP superiores ($p < 0,05$) ao tratamento com FN Bayóvar sem inoculação (**Figura 1**). Os incrementos na produção de MSPA em relação ao tratamento com FN Bayóvar sem inoculação variaram de 42 a 52% nos tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 04-21 e UFLA 03-10, respectivamente. Em relação à MSR, os incrementos foram ainda maiores, de 65, 105, 111 e 120% nos tratamentos inoculados com as estirpes UFPI B5-8A, UFLA 04-21, UFPI B5-6 e UFLA 03-10, respectivamente. Em relação aos tratamentos adubados com P solúvel, essas quatro estirpes foram superiores ($p < 0,05$) ao tratamento com $50 \text{ mg P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ para o NP e promoveram produção de MSPA equivalentes a cerca de 60% da produção obtida no tratamento com 150 mg dm^{-3} de P solúvel.

Quanto ao acúmulo de P na parte aérea, os tratamentos inoculados com as estirpes UFLA 04-21, UFLA 03-10, UFPI B5-6 e UFPI B5-8A promoveram aumentos ($p < 0,05$) em relação ao tratamento com FN Bayóvar sem inoculação e aos tratamentos com 50 e $100 \text{ mg P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ de P solúvel (**Tabela 1**). A estirpe UFLA 03-10 destacou-se ($p < 0,05$) das demais promovendo acúmulo de P na parte aérea semelhante aos tratamentos que receberam 200 e $250 \text{ mg P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ de P solúvel.

Para os outros macronutrientes (N, K, Ca, Mg e S) também foram verificados aumentos ($p < 0,05$) do acúmulo na parte aérea com a inoculação das estirpes UFLA 04-21, UFLA 03-10, UFPI B5-6 e



UFPI B5-8A, exceto para acúmulo de K nos tratamentos inoculados com as estirpes UFPI B5-6 e UFPI B5-8A que foram semelhantes ao tratamento com FN Bayóvar sem inoculação (**Tabela 1**).

Quanto ao acúmulo de micronutrientes na parte aérea, houve variabilidade de respostas dos tratamentos (**Tabela 1**). A inoculação com a estirpe UFLA 04-155 promoveu aumento ($p < 0,05$) apenas no acúmulo de Fe, enquanto a inoculação com a estirpe UFLA 04-21 resultou no aumento ($p < 0,05$) do acúmulo de Cu, Fe, Mn, Zn e B em relação ao tratamento com FN Bayóvar sem inoculação. A estirpe UFLA 03-10 promoveu aumento ($p < 0,05$) no acúmulo de Cu, Fe e B, a estirpe UFPI B5-6 aumentou ($p < 0,05$) o acúmulo de Cu, Zn e B e a estirpe UFPI B5-8A aumentou ($p < 0,05$) o acúmulo de Fe, Mn e B.

Estirpes dos gêneros *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Paenibacillus* e *Pseudomonas* são frequentemente descritas como promotoras do crescimento de plantas devido à capacidade de atuação em diferentes processos biológicos (Costa et al., 2013; Estrada et al., 2013; Oliveira-Longatti et al., 2014).

Na cultura do arroz, foram verificados aumentos significativos no crescimento da parte aérea e radicular, e no acúmulo de P e N em plantas inoculadas com estirpes de *Burkholderia* e cultivadas em vasos com solo adubado com fosfato tricálcico [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] (Estrada et al., 2013). A combinação de estirpes de *Pseudomonas* + *Azotobacter* + *Azospirillum* e $30 \text{ kg ha}^{-1} \text{ P}_2\text{O}_5$ (fonte não mencionada) em experimento conduzido em vasos com solo, resultou no aumento do crescimento vegetal, do acúmulo de N, P e K e da produtividade de grãos de arroz em relação ao tratamento sem inoculação com $30 \text{ kg ha}^{-1} \text{ P}_2\text{O}_5$ (Lavakush et al., 2014). A capacidade de solubilização de fosfato de cálcio por estirpes dos gêneros *Enterobacter* e *Paenibacillus* já foi observada em alguns estudos (Marra et al., 2012; Costa et al., 2013), no entanto, o nosso estudo é o primeiro que relata a contribuição de estirpes desses gêneros para o crescimento e nutrição do arroz através da solubilização de FN inorgânico.

CONCLUSÕES

As estirpes UFLA 04-21, UFPI B5-6, UFLA 03-10 e UFPI B5-8A aumentam a produção de matéria seca da parte aérea e radicular de plantas de arroz pela solubilização do fosfato natural Bayóvar. Essas estirpes também aumentam o acúmulo de fósforo, nitrogênio, cálcio, magnésio, enxofre e boro na parte aérea de plantas de arroz em relação ao tratamento com fosfato natural Bayóvar sem inoculação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEMIG, a CAPES e ao CNPq pelo financiamento da pesquisa e pela concessão de bolsas de estudos.

REFERÊNCIAS

- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: 2012/2013 Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_07_09_09_04_53_boletim_graos_junho__2013.pdf. Acesso em 12 mar. 2014.
- COSTA, E. M.; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. et al. Promoção do crescimento vegetal e diversidade genética de bactérias isoladas de nódulos de feijão-caupi. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48:1275-1284, 2013.
- DIAS, P. R.; GATIBONI, L. C.; ERNANI, P. R. et al. Substituição parcial de fosfato solúvel por natural na implantação de *Eucalyptus benthamii* e *Eucalyptus dunnii* no planalto sul catarinense. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 38:516-523, 2014.
- ESTRADA, G. A.; BALDANI, V. L. D.; DE OLIVEIRA, D. et al. Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. Plant and Soil, 369:115-129, 2013.
- FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; WRIGHT, R. J. Influence of phosphate rock sources and rates on rice and common bean production in an Oxisol. Plant and Soil, 45:539-546, 1991.
- LAVAKUSH, L.; YADAV, J.; VERMA, J. P. et al. Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*). Ecological Engineering, 62:123-128, 2014.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, A. S. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba: Potafos. 1997. 319p.
- MARRA, L. M.; SOARES, C. R. F. S.; OLIVEIRA, S. M. et al. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. Plant and Soil, 353:289-307, 2012.
- NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters, 170:265-270, 1999.
- OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MARRA, L. M.; SOARES, L. B. et al. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 29:1-12, 2014.

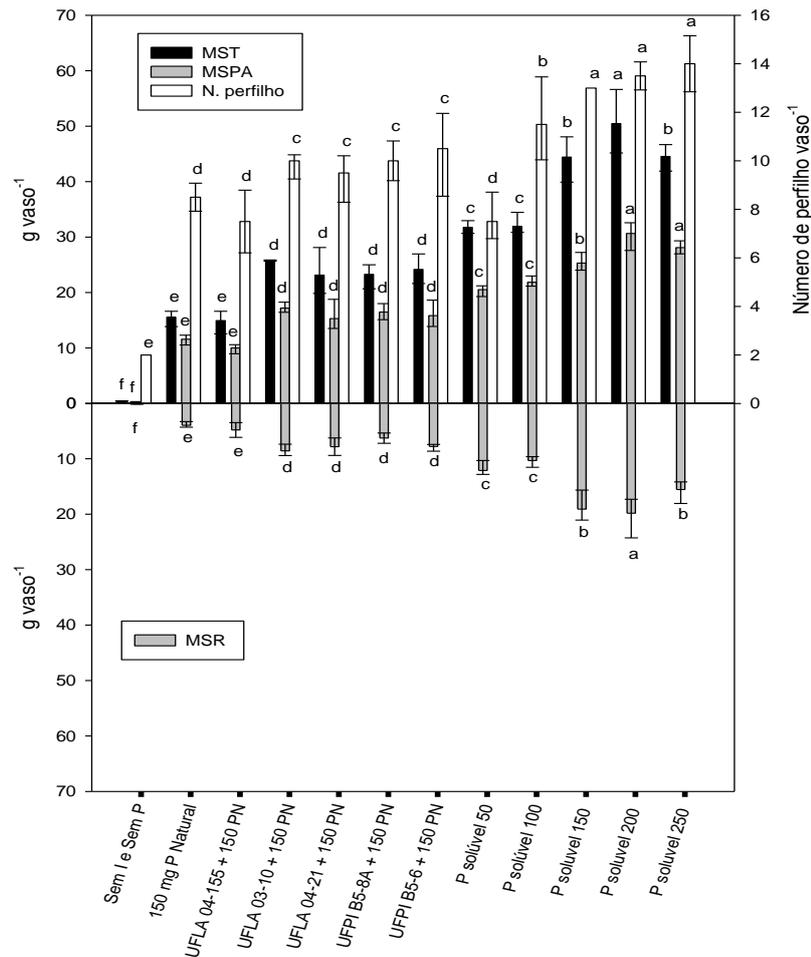


Figura 1- Massa seca total (MST), matéria seca da parte aérea (MSPA), número de perfilhos (NP) e matéria seca da raiz (MSR) de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) sob diferentes condições de fornecimento de fósforo, aos 90 dias após o plantio em vasos contendo amostras de um Latossolo Vermelho Amarelo. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Sem I Sem P: Sem inoculação e sem adubação com fósforo, PN: Fosfato natural Bayóvar ($\text{mg P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$), P solúvel: Fosfato monoamônio ($\text{mg P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$).

Tabela 1- Conteúdo de macronutrientes e micronutrientes na parte aérea de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), sob diferentes condições de fornecimento de fósforo, aos 90 dias após o plantio em vasos contendo amostras de um Latossolo Vermelho Amarelo.

Tratamentos ¹	N P K Ca Mg S						Cu Fe Mn Zn B				
	----- (mg vaso ⁻¹) -----						----- (µg vaso ⁻¹) -----				
Sem I Sem P	9 f	1 e	3 c	1 f	2 f	1 e	2,5 e	742 f	113 c	17 f	5 e
150 mg $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ (PN)	326 e	28 c	244 b	61 c	32 e	46 d	173 d	1036 e	8616 b	2554 d	194 d
UFLA 04-155 + (PN)	302 e	26 c	221 b	56 c	29 e	40 d	152 d	1422 d	7959 b	1701 e	168 d
UFLA 04-21 + (PN)	431 d	34 b	350 a	86 a	51 d	61 c	212 c	1506 d	9614 a	3880 c	318 b
UFLA 03-10 + (PN)	490 c	38 a	405 a	93 a	48 d	62 c	209 c	1405 d	8756 b	3244 d	249 c
UFPI B5-6 + (PN)	440 d	35 b	286 b	74 b	45 d	64 c	225 b	1193 e	8391 b	3727 c	284 b
UFPI B5-8A + (FN)	405 d	31 b	249 b	87 a	44 d	59 c	184 d	1336 d	9194 a	3097 d	370 a
50 mg $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ (PS)	404 d	19 d	389 a	14 e	46 d	53 c	232 b	1682 d	9583 a	4115 c	379 a
100 mg $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ (PS)	520 c	26 c	449 a	32 d	59 c	71 b	235 b	2334 c	9559 a	5433 b	366 a
150 mg $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ (PS)	631 b	32 b	421 a	39 d	66 c	75 b	272 a	2371 c	9803 a	5734 b	398 a
200 mg $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ (PS)	766 a	41 a	469 a	34 d	83 a	83 a	296 a	3439 b	9175 a	6722 a	378 a
250 mg $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ dm}^{-3}$ (PS)	759 a	37 a	391 a	40 d	73 b	73 b	270 a	3873 a	8555 b	5956 b	386 a
CV (%)	7,2	11,1	16,5	10,3	12,1	10,6	8,9	12,1	6,9	9,8	10,2

¹Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Sem I Sem P: Sem inoculação e sem adubação com fósforo; PN: Fosfato natural Bayóvar, PS: Fosfato solúvel ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), UFLA 04-155 (*Burkholderia fungorum*), UFLA 04-21 (*Burkholderia* sp.), UFLA 03-10 (*Paenibacillus kribbensis*), UFPI B5-6 (*Enterobacter* sp.), UFPI B5-8A (*Pseudomonas* sp.).