



**Eficiência agrônômica da inoculação à base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho**

***Agronomic efficiency of inoculation with *Pseudomonas fluorescens* in corn crop***

**Claudemir Zucareli<sup>1</sup>, Igor Ribeiro Cil<sup>2</sup>, Cássio Egídio Cavenaghi Prete<sup>1</sup>, André Mateus Prando<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina (UEL), Departamento de Agronomia. Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380. Caixa Postal 6001, CEP: 86051-990. Londrina - PR. E-mail: claudemircca@uel.br

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, colaborador Universidade Estadual de Londrina. Londrina - PR.

Recebido em: 05/03/2010

Aceito em: 23/05/2011

**Resumo.** O custo com a utilização de fertilizantes químicos e as frustrações de safras podem ser minimizadas pela inoculação das sementes com rizobactérias promotoras de crescimento vegetal. O trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência agrônômica do inoculante à base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho. O experimento foi conduzido na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, no estado do Paraná. Foram testados dois níveis de adubação fosfatada (50 e 100% da recomendação), com e sem inoculação, em esquema fatorial (2 x 2), com cinco repetições. A adubação fosfatada foi realizada no sulco de semeadura utilizando como fonte o superfosfato triplo. As características avaliadas foram altura da planta, altura de inserção da espiga, plantas acamadas, plantas quebradas, comprimento de espiga, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileiras, diâmetro da espiga e do sabugo, umidade dos grãos, produtividade e peso de 100 grãos. As avaliações foram realizadas no estágio de maturação de colheita (umidade de 20%). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A inoculação à base de *Pseudomonas fluorescens*, independentemente da adubação fosfatada, aumentou o diâmetro médio das espigas de milho. A inoculação e a adubação fosfatada não alteraram o número de grãos por fileiras, o diâmetro dos sabugos, a massa de 100 grãos, o peso do sabugo e a produtividade de grãos.

**Palavras-chave.** Adubação fosfatada, disponibilização de fósforo, rizobactérias.

**Abstract.** The cost of chemical fertilizers and crops frustration can be minimized by seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. The study aimed to evaluate the agronomic efficiency of the inoculant the bases of *Pseudomonas fluorescens* in corn crop. The experiment was conducted at the State University of Londrina, Parana state, Brazil. We tested two levels of phosphate fertilizer (50 and 100% of recommendation), with and without inoculation, in factorial scheme (2 x 2), with five repetitions. The phosphorus fertilization was performed at sowing using as source the triple superphosphate. The evaluated characteristics were plant height, height of ear insertion, lodged plants, broken plants, ear length, number of rows per ear, number of grains per row, ear diameter and cob weight, grain moisture, yield and weight of 100 grains. The evaluations were performed at the maturity stage of harvest (moisture 20%). The data were submitted to analysis of variance and averages compared by Tukey test at 5% probability. The seed inoculation of *Pseudomonas fluorescens*, independently of the phosphate fertilizer, increased the average diameter of the ear of corn. The inoculation and phosphorus fertilization did not alter the number of seed per row, the diameter of cob, the mass of the 100 grains, the weight of the cob and the grain yield.

**Keywords.** Availability of phosphorus, phosphorus fertilization, rizobacterias.

### **Introdução**

Cada vez mais a sociedade exige da agricultura a produção de alimentos em quantidades maiores e de melhor qualidade. Para atender essa exigência, acredita-se que uma

importante estratégia consiste na inoculação das sementes com bactérias promotoras de crescimento vegetal. De acordo com Oliveira et al. (2003), o crescimento vegetal promovido por estas bactérias deve-se à combinação de um ou



mais dos seguintes mecanismos: produção de fitohormônios, fixação biológica de nitrogênio, controle biológico de patógenos, solubilização de fósforo inorgânico e outros nutrientes e mineralização de fósforo orgânico.

Os solos de regiões tropicais como os de cerrado apresentam, sob condições naturais, baixo teor de fósforo total, baixa concentração de fósforo disponível e altas taxas de complexação do nutriente, não atendendo as necessidades nutricionais das plantas. Em tais circunstâncias, a adubação fosfatada torna-se necessária para garantir a produtividade máxima das culturas (Machado et al., 1999; Prado et al., 2001).

Dentre os nutrientes presentes nos fertilizantes, o fósforo constitui um dos mais limitantes para a cultura do milho, especialmente em solos de cerrado, sendo altas e frequentes as respostas à adubação fosfatada (Prado & Fernandes, 2001).

A demanda por adubações fosfatadas pode, muitas vezes, elevar os custos de produção das culturas. Uma das estratégias para aumentar a eficiência da adubação fosfatada é fazer com que as plantas tenham sistema radicular mais desenvolvido, capaz de explorar melhor os nutrientes e a água do solo, proporcionando melhores condições de desenvolvimento e aumento de produtividade (Prado & Fernandes, 2001; Resende et al., 2006).

Uma alternativa para reduzir custos e diminuir riscos ambientais causados pela utilização inadequada de fertilizantes e defensivos é a produção de inoculantes de baixo custo com rizobactérias, como por exemplo, a *Pseudomonas fluorescens*, promotoras do crescimento de plantas (Humphris et al., 2005; Coelho et al., 2007).

De acordo com Vessey (2003), esses microrganismos têm participação ativa nas transformações do fósforo no solo, influenciando sua solubilização e disponibilidade para as plantas, uma vez que essas transformações se originam da decomposição de compostos orgânicos, reduzindo a imobilização na microbiomassa e aumentando a solubilização de formas inorgânicas. Portanto, devido ao seu rápido crescimento, a cultura do milho apresenta elevada demanda por nutrientes, podendo assim beneficiar-se das associações com as rizobactérias

promotoras de crescimento (Siqueira et al., 2004; Benizri et al., 2001).

O trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência agrônômica do inoculante à base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho.

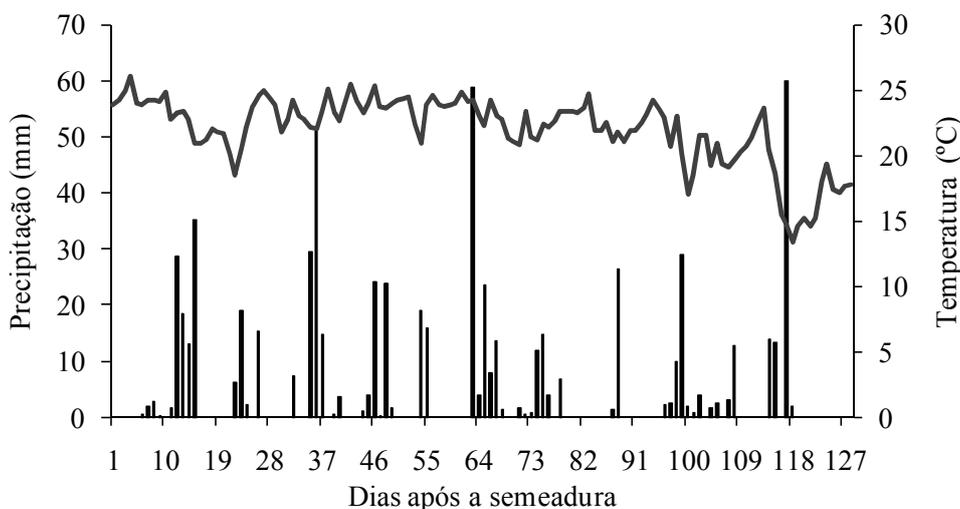
### Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina, no estado do Paraná, na latitude 23°20'23" S e longitude 51°12'32" W, situada a altitude média de 580 m. O clima da região segundo a classificação é do tipo CFA, clima subtropical úmido mesotérmico, com verões quentes e geadas pouco frequentes, com tendência de concentração de chuvas nos meses de verão e sem estação seca definida. A temperatura média anual é de 20,2 °C, a média da temperatura máxima é de 27,0 °C e a média da temperatura mínima é de 14,8 °C. A umidade relativa do ar é de 75% (IAPAR, 2007). Na Figura 1 são apresentados os dados de precipitação pluvial e de temperatura média diária no período de condução do experimento (janeiro a abril de 2008), obtidos junto à estação meteorológica da Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina.

Foram testados dois níveis de adubação fosfatada 40 e 80 kg ha<sup>-1</sup> (50 e 100% da recomendação), com e sem inoculação, em esquema fatorial (2 x 2), totalizando quatro tratamentos. A correção do solo e adubação de semeadura foram realizadas com base na análise química do solo e nas recomendações para a região.

A adubação com nitrogênio e potássio foram as mesmas para todos os tratamentos, sendo o fósforo a única fonte de variação na fertilidade do solo. A adubação fosfatada foi realizada no sulco de semeadura utilizando como fonte o superfosfato triplo.

A semeadura foi realizada no dia 7 de janeiro de 2008, manualmente, em área de plantio convencional. Em torno de 20 dias após a semeadura foi feito desbaste, de modo a atingir uma população de plantas de 60000 plantas. O controle de pragas, doenças e de plantas daninhas foi realizado conforme recomendações para a cultura do milho.



**Figura 1:** Temperatura média diária e precipitação pluvial no período de condução do experimento em Londrina-PR.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com cinco repetições. As parcelas foram constituídas de quatro linhas de seis metros de comprimento, com espaçamento de 0,9 m. Foi considerada como parcela útil as duas linhas centrais, desprezando-se um metro em cada extremidade.

A cultivar utilizada foi o híbrido simples Dow2B587 recomendado para a região em questão. As sementes foram previamente tratadas com fungicida e inseticida (Maxim XL e Cruiser). A dose do inoculante a base de *P. fluorescens* foi de 140 mL ha<sup>-1</sup> para aplicação nas sementes, sendo 100 mL ha<sup>-1</sup> de Rizofos<sup>®</sup> e 40 mL ha<sup>-1</sup> de Premax-R<sup>®</sup> que é um protetor bacteriano que melhora a sobrevivência das bactérias após a inoculação. O Premax-R<sup>®</sup> foi misturado ao Rizofos<sup>®</sup> antes da inoculação. No estádio V4 das plantas de milho foi realizada uma adubação nitrogenada de cobertura com 120 kg ha<sup>-1</sup> de uréia.

As características avaliadas foram altura da planta, altura de inserção da espiga, plantas acamadas, plantas quebradas, comprimento de espiga, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileiras, diâmetro da espiga e do sabugo, umidade dos grãos, produtividade e peso de 100 grãos. As avaliações foram realizadas no estádio de maturação de colheita (umidade de 20%).

A altura de planta e da inserção da espiga foram medidas, em cinco plantas de cada parcela (de forma aleatória), considerando, respectivamente, a distância do colo da planta até

a inserção da folha-bandeira e a distância do colo da planta até o ponto de inserção da primeira espiga formada.

As plantas foram consideradas acamadas quando o ângulo entre a base do colmo e o nível do solo foi inferior a 45°. Foram considerados quebrados os colmos que apresentavam ruptura significativa no seu tecido de sustentação abaixo do ponto de inserção da espiga superior.

O comprimento da espiga foi dado em centímetros, medindo-se a distância entre o primeiro e o último grão da linha mais longa, obtendo assim o valor médio do comprimento da espiga. Foram consideradas 10 espigas representativas de cada parcela. Das 10 espigas representativas de cada parcela, retirou-se a palha e contou-se, individualmente, o número de fileiras de grãos e o número de grãos por fileiras, obtendo-se o valor médio. O diâmetro da espiga e do sabugo foi obtido em centímetros.

O diâmetro da espiga foi medido no meio da espiga, com o auxílio de um paquímetro manual, em uma amostra de 10 espigas da parcela útil. Para medir o diâmetro do sabugo foi feita a debulha das espigas e posteriormente, mediu-se o diâmetro na região mediana do sabugo.

O teor de água nos grãos foi obtido por um medidor de capacitância digital Gehaka (G600), onde é realizada leitura da umidade de um volume pré-determinado. A produtividade de grãos foi obtida por meio da pesagem dos grãos da área útil de cada parcela, os dados foram transformados

para  $\text{kg ha}^{-1}$  e corrigidos para 13 % de umidade. Após a trilha, foi realizada uma homogeneização do lote, posteriormente, separou-se 100 grãos, os quais foram pesados em uma balança digital, obtendo-se a massa de 100 grãos.

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

### Resultados e Discussão

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, apenas o diâmetro da espiga, a altura da planta e da inserção da espiga apresentaram

variação em função dos tratamentos. O diâmetro da espiga respondeu significativamente ao tratamento de inoculação com a bactéria *Pseudomonas fluorescens*. A média dos tratamentos onde houve a inoculação foi de 4,94 cm, diferente dos tratamentos em que não foi realizada a inoculação, que atingiu 4,71cm. Embora não significativo, o rendimento de grãos de milho obtido neste trabalho nos tratamentos com inoculação de sementes foram  $253 \text{ kg ha}^{-1}$  superiores aos tratamentos que não foram inoculados com a bactéria.

**Tabela 1.** Altura de plantas (AP), altura de inserção das espigas (AE), comprimento das espigas (CE), número de grãos por fileiras (GF), diâmetro das espigas (DE), diâmetro dos sabugos (DS), peso de 100 grãos (P100), peso do sabugo (PS) e produtividade (PROD) em função de doses de fósforo e inoculação de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho em Londrina, PR.

Dose	AP	AE	CE	GF	FE	DE	DS	P100	PS	PROD
$\text{kg ha}^{-1}$	m	m	cm			cm	cm	g	g	$\text{kg ha}^{-1}$
40	2,25b	1,25b	16,66	37,2	15,65	4,78	2,72	35,2	250,4	9.681
80	2,32a	1,30a	16,97	37,2	15,90	4,87	2,75	35,4	251,4	9.901
Inoculação										
Com	2,29	1,28	17,01	37,5	15,88	4,94a	2,74	36,3	254,0	9.934
Sem	2,28	1,27	16,62	37,5	15,66	4,71b	2,73	34,4	247,8	9.691
Valor de F										
Dose	13,4*	4,6*	0,5 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	1,3 <sup>ns</sup>	1,4 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>	0,9 <sup>ns</sup>
Inoc.	0,6 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,9 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	1,0 <sup>ns</sup>	9,2*	0,1 <sup>ns</sup>	1,5 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	1,6 <sup>ns</sup>
D x I	0,6 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,9 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,2 <sup>ns</sup>	0,8 <sup>ns</sup>	3,3 <sup>ns</sup>	0,0 <sup>ns</sup>
CV %	2,19	4,51	6,09	5,59	3,38	3,78	4,29	10,56	11,34	5,7

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey 5%. \* e <sup>ns</sup>: significativo a 5 % e não significativo pelo teste F, respectivamente.

A altura de plantas e da inserção da espiga aumentou em função do incremento da dose para  $80 \text{ kg ha}^{-1}$  de fósforo. No entanto as demais características não foram influenciadas. Dentre os componentes morfológicos a altura de plantas não tem, geralmente, correlação com a produtividade (Fancelli, 1997). Cultivares modernas, com alto potencial produtivo são, em sua maioria, de porte baixo, mas é possível encontrar materiais de porte alto com performances semelhantes.

Não houve variações significativas nos valores médios do número de fileiras de grãos por espiga para os tratamentos avaliados. De acordo com Fancelli & Dourado-Neto (1997), a determinação deste evento coincide com a segunda semana após a emergência, fase em que

se inicia a formação dos primórdios da espiga. A falta de água e nutrientes nesta fase pode afetar esses componentes, porém, como as condições experimentais foram as mesmas para todos os tratamentos não houve variação para essa característica avaliada.

Os valores médios da massa de 100 grãos também não variaram significativamente em função dos tratamentos avaliados. Segundo Ohland et al. (2005), o peso da massa de grãos é uma característica influenciada pelo genótipo, pela disponibilidade de nutrientes e pelas condições climáticas durante os estádios de enchimento dos grãos, porém, como só foi avaliada uma única cultivar e as condições experimentais eram as mesmas para todos os



tratamentos, as variações nas doses de adubação fosfatada não foram suficientes para alterar a massa de 100 grãos, ou então, o P disponível no solo não foi limitante ao desenvolvimento da planta e ao enchimento de grãos mesmo no tratamento com menor dose.

Para rendimento de grãos, não se detectou diferença entre os tratamentos. Assim o inoculante Rizofos<sup>®</sup>, não favoreceu o rendimento de grãos. Esses resultados concordam com Campos et al. (1999) que, trabalhando com o inoculante Graminante<sup>®</sup> para as culturas de trigo e aveia, também não encontraram respostas agrônomicas favoráveis ao produto em nenhum dos parâmetros analisados.

Uma extensiva colonização é essencial para alcançar um eficiente controle biológico e estimular o crescimento das plantas. 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. A quantidade de fotossintatos rizodepositados é variável em função da espécie vegetal e dos fatores ambientais, sendo os valores mais comuns entre 10 e 100 mg de carbono por grama de raiz seca ou, aproximadamente, 20% dos fotossintatos (Whipps, 1985). Portanto, como as condições ambientais foram totalmente favoráveis e a disponibilidade de nutrientes no solo atendiam as necessidades da cultura a inoculação da bactéria não demonstrou resultado expressivo.

As condições ambientais foram totalmente favoráveis para o desenvolvimento da cultura, o que pode ter afetado os resultados da inoculação com *Pseudomonas fluorescens*. É preciso testá-la em condições mais adversas, ou seja, em solos com baixos teores de fósforo, onde será melhor observada a capacidade dessas rizobactérias de disponibilização do fósforo para a planta.

### Conclusões

A inoculação à base de *Pseudomonas fluorescens*, independentemente da adubação fosfatada, aumentou diâmetro médio das espigas de milho.

A inoculação e a adubação fosfatada não alteram o número de grãos por fileiras, o diâmetro

das espigas, o diâmetro dos sabugos, a massa de 100 grãos, o peso do sabugo e a produtividade de grãos.

### Referências

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. **Biocontrol Science and Technology**, v. 11, p. 557-574, 2001.

CAMPOS, B.C. de, THEISEN, S., GNATTA, V. Avaliação do inoculante "Graminante" nas culturas de trigo e aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 3, p. 401-407, 1999.

COELHO, F.L.; FREITAS, S.S.; MELO, A.M.T.; AMBROSANO, G.M.B. Interação de bactérias fluorescentes do gênero *Pseudomonas* e de *Bacillus* spp. com a rizosfera de diferentes plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1413-1420, 2007.

FANCELLI, A. L. **Cultura do milho: A importância da tecnologia**. Informações Agrônomicas, Piracicaba, v. 1, n. 78. p. 4-6. 1997.

FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. **Milho: Ecofisiologia e rendimento**. In: Fancelli, A.L.; Dourado-Neto, D., (coords.). **Tecnologia da produção de milho**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. p.157-170.

HUMPHRIS, S.N.; BENGOUGH, A.G.; GRIFFITHS, B.S.; KILHAM, K.; RODGER, S.; STUBBS, V.; VALENTINE, T.A.; YOUNG, I.M. Root cap influences root colonisation by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 on maize. **Fems Microbiology Ecology**, v. 54, p. 123-130, 2005.

IAPAR. **Monitoramento Agroclimático do Paraná**. Londrina, 2007. Disponível em: <<http://200.201.27.14/Site/Sma/Index.html>>. Acesso em: 10/04/07.

LUZ, W.C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 597-600, 2001.

MACHADO, C.T.T.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L.; MACHADO, A.T.



**Variabilidade entre genótipos de milho para eficiência no uso de fósforo.** *Bragantia*, v. 58, p. 109-124, 1999.

NOVAIS, R.F.; SMYTH, T.J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais.** Viçosa: Departamento de Solos da UFV. 1999. 399p.

OHLAND, R.A.A.; SOUZA, L.C.F.; MACHETTI, M.E.; GONÇALVES, M.C. **Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto.** *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005.

OLIVEIRA, A.L.M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J.I. **Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 40p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161). 2003.

PRADO, R.M.; FERNANDES, F.M. Aspectos econômicos da adubação fosfatada para cultura do milho. *Scientia Agricola*, v. 58, p.617-621, 2001.

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

RESENDE, A.V.; FURTINI NETO, A.E.; ALVES, V.M.C.; MUNIZ, J.A.; CURTI, N.; FAQUIN, V.; KIMPARA, D.I.; SANTOS, J.Z.L.; CARNEIRO, L.F. Fontes e modos de aplicação de fósforo para o milho em solo cultivado da região do cerrado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 30, p. 453-466, 2006.

SIQUEIRA, J.O.; ANDRADE, A.T.; FAQUIN, V. O papel dos microrganismos na disponibilização e aquisição de fósforo pelas plantas. In: YAMADA, T.; STIPP, S.R.; ABDALLA, S.R.S. **Fósforo na agricultura brasileira.** Piracicaba: POTAFOS, 2004. p. 117-1149, 2004.

VESSEY, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, v. 255, p. 571-586, 2003.

WHIPPS, J. M.; Effect of CO<sub>2</sub> concentration on growth, carbon distribution and loss of carbon from the roots of maize. *Journal of Experimental Botany* 36, 644-651, 1985.