

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Microrganismos potencialmente solubilizadores visando o aumento  
da eficiência de diferentes fertilizantes fosfatados**

**Bruna de Souza Gonçalves**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como  
parte dos requisitos para obtenção do título de  
Engenheira Agrônoma

**Piracicaba  
2022**



**Bruna de Souza Gonçalves**

**Microrganismos potencialmente solubilizadores visando o aumento da eficiência de diferentes fertilizantes fosfatados**

Orientador:  
Prof. Dr. **PAULO SÉRGIO PAVINATO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Agrônoma

**Piracicaba**  
**2022**



## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus e Nossa Senhora Aparecida pelo dom da vida e pelo amparo em todas as situações. Agradeço também à Santa Catarina de Alexandria, patrona dos estudantes, pela oportunidade de realizar a Graduação.

Agradeço à minha família, especialmente meus pais Amauri Roberto e Simone Cristina, pelo amor e apoio incondicional durante toda a vida.

Agradeço aos amigos de infância, Larissa, Pedro Henrique e Renata, que sempre estiveram presentes na minha jornada. Agradeço também aos novos amigos proporcionados pela ESALQ pelo companheirismo, bons momentos e amor envolvidos. Dentre eles, Julia, Annie, Laura, Sara, Maria Clara, Stella, Lucas, Bruno, Gabriel, Pedro e Vítor.

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Sérgio Pavinato e à doutoranda Mayara Martins e Martins pela oportunidade e confiança em iniciar a vida científica, pelo aprendizado e suporte que tornaram possível a realização desse trabalho.

Agradeço também ao GEFA (Grupo de Estudos em Fertilidade e Adubação) pela experiência que tive, visando o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Por fim, agradeço a Luiz e Ermelinda de Souza Queiroz, pela Gloriosa ESALQ (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”).

## EPÍGRAFE

*“Os sonhos não determinam o lugar onde vocês vão chegar, mas produzem a força necessária para tirá-los do lugar em que vocês estão”.*

Augusto Cury

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	6
<b>ABSTRACT .....</b>	7
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	9
<b>1.1. O nutriente fósforo (P).....</b>	9
1.2. Os fertilizantes fosfatados.....	11
1.3. Microrganismos solubilizadores de fosfato .....	13
1.4. O elemento fósforo e a cultura do milho .....	15
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	16
2.1. Objetivo geral.....	16
2.2. Objetivos específicos .....	16
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	16
3.1. Local de condução do experimento .....	16
3.2. Delineamento experimental e parâmetros adotados .....	17
3.3. Coleta e preparo do solo.....	19
3.4. Montagem e condução do experimento.....	20
3.5. Análises realizadas no experimento .....	21
<b>4. RESULTADOS .....</b>	23
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	34
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	40
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	41
<b>APÊNDICES .....</b>	49

## RESUMO

### **Microrganismos potencialmente solubilizadores visando o aumento da eficiência de diferentes fertilizantes fosfatados**

Os solos agrícolas tropicais brasileiros apresentam naturalmente baixa disponibilidade do elemento fósforo (P) devido, principalmente, à sua elevada capacidade de interação e fixação com os coloides do solo, como as argilas e óxidos de ferro (Fe) e de alumínio (Al). O cultivo de milho (*Zea mays* L.) tem destaque no Brasil, país considerado um dos principais produtores mundiais do grão. Nessa cultura, é comum a adubação com fontes fosfatadas solúveis, porém, devido aos impactos advindos dos processos industriais, vem se intensificando o uso dos fosfatos naturais. Com isso, a fim de manter os elevados níveis de produtividade, tem se buscado novas tecnologias que auxiliem à demanda nutricional vegetal. Visando testar a eficácia de biotecnologias envolvendo microrganismos solubilizadores de fosfato, o presente trabalho apresenta a interação entre diferentes fertilizantes fosfatados, doses crescentes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e a inoculação microbiana. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, contando com três fontes fosfatadas: superfosfato triplo (STP), fosfato natural de Araxá (FN Araxá) e fosfato natural reativo OCP Marrocos (FNR); quatro diferentes doses de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 0 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo, 50 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo, 100 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo e 150 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo; e três modos de inoculação: sem inoculação de microrganismos, com a inoculação de microrganismos do gênero *Bacillus* e com a aplicação do produto BiomaPhos. Os atributos avaliados foram: parâmetros fenológicos vegetais, produção de matéria seca pela cultura, análise nutricional do teor foliar de macronutrientes, análise química da fertilidade do solo e também foi realizado o fracionamento sequencial de fósforo. O superfosfato triplo destacou-se como a melhor fonte fosfatada frente às demais testadas. Os tratamentos com a presença dos microrganismos apresentaram acréscimos na massa seca da parte aérea vegetal e no teor foliar de fósforo quando comparados com o tratamento sem a inoculação microbiana.

**Palavras-chave:** Labilidade de Fósforo, Solos Agrícolas Brasileiros, Fosfatos Naturais, Bio-inoculantes, Solubilização de Fósforo

## ABSTRACT

### **Potentially solubilizers microorganisms for improving the efficiency of different phosphate fertilizers**

Brazilian tropical agricultural soils naturally presents low phosphorus (P) availability due to its high capacity to fix soil colloids, such as clays and iron (Fe) and aluminum (Al) oxides. Corn cultivation (*Zea mays* L.) is prominent in Brazil, which is one of the largest grain producers in the world. In order to maintain high levels of productivity, new technologies have been sought to help the demand for nutrients. Aiming to test the effectiveness of biotechnologies involving microorganisms, the present work presents the interaction between different phosphate sources, increasing doses of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and microbial inoculation. The experiment was carried out in a greenhouse, with three phosphate sources: triple superphosphate (TSP), reactive phosphate OCP Morocco (FNR) and natural phosphate of Araxá (FN Araxá); four different P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> doses: 0 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> soil, 50 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> soil, 100 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> soil and 150 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> soil; and three inoculation modes: without inoculation, inoculation with *Bacillus* sp. and product BiomaPhos application, in addition to the absolute control treatment. The evaluated attributes were: phenological parameters, dry matter production, leaf nutritional analysis, soil fertility chemical analysis and sequential P fractionation. Triple superphosphate stood out as the best phosphate source compared to the others tested. The treatments with microorganisms inoculation increased the dry mass of the aerial part and the foliar phosphorus content when compared to the treatment without the inoculation.

**Keywords:** Phosphorus Lability, Brazilian Agricultural Soils, Natural Phosphates, Bio-inoculants, Phosphorus Solubilization



## 1. INTRODUÇÃO

O solo é considerado um ambiente fundamental para as atividades agrícolas, servindo como fonte original dos nutrientes utilizados na agricultura e suporte físico para os cultivos. A grande biodiversidade presente possui papel fundamental nos processos dinâmicos dos elementos essenciais e regulação dos processos biogeoquímicos formadores e mantenedores dos ecossistemas (PARIKH; JAMES, 2012). Como exemplos, atribui-se aos organismos edáficos as funções de formação e estruturação de solos, decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e formação dos gases componentes da atmosfera terrestre (CANHOS, 1998).

### 1.1. O nutriente fósforo (P)

Taiz e Zeiger (2009) consideraram o elemento fósforo (P) como um macronutriente essencial para a vida vegetal, estando relacionado à formação de compostos energéticos (como a adenosina trifosfato - ATP -, considerada a principal molécula carreadora de energia química presente em inúmeras reações celulares) e estruturais (por exemplo, os ácidos nucleicos - DNA e RNA - e a membrana celular plasmática fosfolipídica). Ikhajiagbe (2020) considerou o P como sendo o componente mais significativo para as plantas, depois do nitrogênio (N). Segundo Tak et al. (2012), esse nutriente representa em torno de 0,2% da massa seca dos vegetais. Também foi considerado por van Raij et al. (1997) como o nutriente responsável pela maior redução de rendimento da produtividade agrícola em solos mal manejados.

De acordo com Bingham (1966), os sintomas de deficiência de P nas culturas agrícolas anuais são: emergência e crescimento lentos; folhas verde-escuras com os pecíolos e nervuras arroxeados, principalmente na parte abaxial; crescimento radicular prejudicado; e plantas estioladas ou com o crescimento prejudicado.

Nos solos brasileiros, de acordo com Novais e Smith (1999), o teor do elemento pode variar entre 200 a 3.000 mg P kg<sup>-1</sup> solo. A divergência quantitativa é função dos cinco fatores envolvidos na gênese dos solos: material de origem, clima, tempo, relevo e organismos. O nutriente pode ser encontrado em sua forma orgânica (Po) ou inorgânica (Pi), representada pela forma H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> (fosfato), que compõe a solução do solo (ANDREOTE; CARDOSO, 2016).

O P orgânico presente nos solos é oriundo da autólise e decomposição da vegetal natural e, em menor porcentagem, dos resíduos de origem animal. Os

principais produtos orgânicos fosforados encontrados no solo são fosfatos de inositol (principais constituintes da matéria orgânica do solo), fosfolipídios, ácidos nucleicos e derivados e os glicídios fosforilados (ANDREOTE; CARDOSO, 2016).

A forma inorgânica do P pode compor a estrutura dos minerais primários ou estar adsorvida aos minerais presentes no solo, às argilas silicatadas do tipo 1:1, à matéria orgânica do solo e aos óxidos e hidróxidos de ferro e de alumínio (MARTINS E MARTINS, 2019).

Na forma inorgânica, entretanto, o elemento é considerado instável e estima-se que a concentração da fração prontamente disponível para a absorção e utilização pelas plantas, ou seja, a fração presente na solução do solo, seja de, aproximadamente, 0,005 mg P L<sup>-1</sup> solução do solo. Sendo que, para o pleno desenvolvimento vegetal e finalização do ciclo, estima-se que as plantas necessitem de uma concentração de 0,003 a 0,3 mg P L<sup>-1</sup> solução do solo, variando de acordo com a espécie cultivada e produção desejada (HAVLIN et al., 1999). Como consequência disso, segundo Nunes et al. (2011), são requeridas doses elevadas de fertilizantes fosfatados a fim de suprir a demanda vegetal e manter a produtividade em níveis satisfatórios. Contudo, muitas vezes a adubação fosfatada é realizada em quantidade superior àquela realmente necessária.

Devido à sua relevância como fator limitante do teto produtivo agrícola, o P é um dos principais elementos aplicados nas culturas. Alguns dos motivos que contribuem para isso são a baixa disponibilidade do elemento às plantas (GULLO, 2002), sua forte capacidade de fixação, sobretudo em solos tropicais (SHEN et al., 2011) e sua baixa mobilidade no solo. Um estudo realizado por Cruz (2015) revelou que, nas condições edafoclimáticas brasileiras, apenas 30% do P adicionado ao solo via adubação é efetivamente disponibilizado às plantas, enquanto o restante é retido na superfície dos minerais já citados anteriormente.

Segundo os estudos de van Raij (2011), os solos tropicais brasileiros apresentam baixos teores do nutriente devido à sua interação com as partículas componentes do solo, como as argilas e os coloides, responsáveis por sua adsorção e consequente indisponibilidade para a absorção pelas plantas. Esse fenômeno é comum em solos intemperizados, os quais possuem elevadas quantidades de óxidos de ferro e de alumínio em sua composição química, resultando na carência de P disponível (ROY et al., 2016).

Outro fator importante que afeta a disponibilidade de P no solo é o pH. A máxima disponibilidade desse nutriente está presente na faixa de pH 6,5 a 7,0. Em níveis inferiores de pH, há a formação de fortes ligações entre o elemento e os óxidos de ferro e de alumínio, responsáveis por reduzir a quantidade de nutriente presente na solução do solo. Além disso, Novais e Smith (1999) relatam que pode haver a precipitação do P com alumínio e ferro livres em solução, formando precipitados insolúveis.

Sendo assim, é possível dividir o P presente no solo em duas fases: lábil e não lábil. O P lábil é aquele presente na solução do solo ou fracamente adsorvido aos coloides e, portanto, disponível para a imediata absorção pelas plantas. Por sua vez, o P não lábil está adsorvido aos coloides por ligações mais fortes, dificultando o processo de utilização vegetal (MATIAS, 2010).

Como citado anteriormente, a principal maneira pela qual o P é adicionado ao sistema é através das adubações fosfatadas, realizadas por meio dos fertilizantes que, ao serem absorvidos pelas plantas e organismos, retornam para o solo após a sua decomposição, finalizando o ciclo do nutriente. Dessa forma, pode-se dizer que a disponibilidade de P está intimamente relacionada às transformações físicas, químicas e biológicas que acontecem no ambiente solo.

## **1.2. Os fertilizantes fosfatados**

De maneira geral, os solos tropicais apresentam deficiência de P disponível para a utilização pelas plantas. Dessa forma, há elevada dependência do uso de fertilizantes fosfatados para o desenvolvimento de uma agricultura competitiva a nível mundial. Pavinato et al. (2020) estimaram que, desde os anos 1970, cerca de 33,4 milhões de toneladas de fertilizantes fosfatados foram acumulados nos solos agrícolas brasileiros. Deve-se ressaltar que esse tipo de insumo apresenta um dos menores índices de aproveitamento pelas culturas.

As maiores reservas mundiais de fosfatos de rocha (matéria prima para a produção de fertilizantes fosfatados) estão concentradas em Marrocos, China, Estados Unidos da América, África do Sul e Jordânia - países que possuem, aproximadamente, 85% das reservas da rocha.

Os fertilizantes fosfatados são divididos em dois principais grupos: fosfatos solúveis em água (industrializados) e fosfatos de baixa solubilidade (fosfatos naturais). Para a produção dos fosfatos solúveis, as rochas fosfatadas são

submetidas a processos de acidulação que prontamente disponibilizam o fosfato para as plantas. Por sua vez, os fosfatos naturais são obtidos apenas com o processo de moagem da rocha fosfática, de forma que a maior a ou menor solubilidade do fosfato dependerá do material de origem (NOVAIS; SMITH, 1999).

Os principais fertilizantes industrializados presentes no mercado atualmente são: superfosfato simples (SSP), superfosfato triplo (STP), fosfato monoamônio (MAP) e fosfato diamônio (DAP).

Os fosfatos naturais podem ser de origem ígnea, sedimentar ou metamórfica. Os fosfatos de origem ígnea são pouco reativos no solo porque sua formação ocorreu a partir do resfriamento do magma, resultando num material compacto e com baixa superfície específica (RAJAN; WATKINSON; SINCLAIR, 1996). Sendo assim, possui qualidade inferior e precisa passar por um processo de exploração mais intenso, o que eleva o preço final do produto. Os fosfatos de origem sedimentar formam-se a partir do acúmulo da deposição de materiais como carcaças, conchas e esqueletos marinhos. Já os fosfatos metamórficos são originados a partir das alterações químicas que acontecem nos fosfatos ígneos e sedimentares (HOROWITZ; MEURER, 2004).

Apesar de apresentarem custo econômico mais significativo, os fosfatos solúveis em água têm preferência na agricultura brasileira por disponibilizarem imediatamente o elemento na solução do solo, garantindo a sua rápida absorção pelas plantas, o que resulta ganhos produtivos visíveis.

Numa tentativa de redução dos problemas econômicos e ambientais que acompanham a produção dos fertilizantes fosfatados solúveis e, sobretudo no contexto atual de dificuldades e incertezas quanto ao abastecimento de insumos agrícolas no país devido às questões geopolíticas mundiais, a proposta de fontes de P alternativas ganha cada vez mais força, conforme citado por Harger et al. (2007). Mesmo com eficácia imediata menor quando comparada às fontes solúveis, os fosfatos naturais apresentam produção mais rentável e ambientalmente correta, além do efeito residual expressivo no solo, o que poderia melhorar a eficiência futura de utilização do nutriente pelas culturas, além de abastecer o estoque de P do solo, o que favorece a adubação fosfatada de longo prazo (FREITAS et al., 2013; MARTINS E MARTINS, 2019).

Visando aumentar a eficiência dessas fontes fosfatadas menos solúveis, vem ganhando importância o estudo de novas tecnologias, dentre elas, a inoculação dos

microrganismos solubilizadores de fosfato, considerados por Zhu et al. (2012) a maneira mais ecologicamente amigável e economicamente viável de realizar tal feito.

### **1.3. Microrganismos solubilizadores de fosfato**

Os microrganismos edáficos são considerados por Cardoso et al. (1992) como os principais responsáveis pela manutenção do ciclo ativo do P no solo através dos processos de mineralização, imobilização e solubilização do nutriente.

A fim de acelerar o ciclo de transformações que o P sofre na natureza, Zhu et al. (2012) relatam que os microrganismos podem secretar enzimas responsáveis por catalisar a mineralização do P orgânico. Além disso, os autores relatam que outra opção viável é a secreção de ácidos orgânicos, que ativam o P por meio da solubilização de formas inorgânicas presentes no solo para a absorção.

A mineralização consiste na transformação do P orgânico, sobretudo nas formas de ácidos nucleicos e fosfolipídeos, para P inorgânico (o qual é considerado solúvel), realizado pela ação de enzimas exsudadas pelas raízes de plantas e por microrganismos. As principais enzimas envolvidas no processo são chamadas de fosfatases e são divididas de acordo com a faixa ótima de pH para sua atividade entre fosfatases ácidas (cujo pH ideal é em torno de 6,5) e fosfatases alcalinas (cujo pH ideal é em torno de 11,0). Segundo Andreote e Cardoso (2016), a fosfatase ácida é produzida por plantas e microrganismos, especialmente os fungos, normalmente sendo a que é quantificada devido às condições edafoclimáticas brasileiras. Por sua vez, a fosfatase alcalina é produzida exclusivamente por microrganismos.

A imobilização do P pode ser definida como o processo contrário à mineralização. Ou seja, o P presente na solução do solo é absorvido pelos microrganismos, passando a compor a biomassa microbiana na forma de P-mic e é utilizado em processos metabólicos e energéticos. Portanto, é considerado temporariamente indisponível (ANDREOTE; CARDOSO, 2016). Posteriormente, há a decomposição dos microrganismos e, com isso, o P retorna para o solo. Esse processo é considerado uma forma temporária de indisponibilidade do P e é preferível, uma vez que evita a adsorção específica do elemento junto aos coloides inorgânicos presentes no solo (TATE et al., 1991; CONTE et al., 2001; MARTINAZZO et al., 2007).

Já a solubilização do P inorgânico adsorvido se dá principalmente por meio da produção e liberação de ácidos orgânicos e inorgânicos. Os microrganismos capazes de realizar esse processo são chamados de microrganismos solubilizadores de fosfato (MSP).

Os ácidos orgânicos liberados pelos MSP são: ácido láctico, glicólico, cítrico, oxálico, málico, succínico e tartárico (ANDREOTE; CARDOSO, 2016). Esses exsudatos atuam diretamente no material fosfatado, dissolvendo-o ou quelando os cátions ligados ao ânion fosfato e, consequentemente, liberando o elemento no sistema solo (RICHARDSON et al., 2011; HU et al., 2009; MAHDI et al., 2011). Por sua vez, a atuação dos ácidos inorgânicos provenientes de processos microbianos (como por exemplo, os ácidos nítrico, sulfúrico e carbônico) sobre as rochas fosfatadas é reduzida, uma vez que a formação estável desses exsudatos no solo é mais difícil por serem considerados ácidos fortes.

Dentre os microrganismos solubilizadores de fosfato, estão presentes os gêneros de bactéria *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Azotobacter* e *Erwinia*, que solubilizam o P a partir da produção de ácidos orgânicos, de acordo com Rodríguez e Fraga (1997) e Khan et al. (2007). Há registros de gêneros de fungos que também são capazes de solubilizar o fosfato, como por exemplo *Aspergillus* e *Penicillium*. Segundo Coutinho et al. (2012), esses fungos também são capazes de solubilizar o elemento presente em fertilizantes fosfatados.

De acordo com Zhu et al. (2012), devido à participação na dinâmica do nutriente P no solo, a inoculação de MSP auxilia à disponibilização do P residual presente nos solos, sendo considerado como uma estratégia para melhorar a produção agrícola, especialmente em solos tropicais e deficientes no elemento, como é o caso dos solos brasileiros. Dessa forma, é indiscutível a importância dos microrganismos do solo na manutenção do ciclo do P, através da mineralização ou solubilização do fosfato.

Por conta dos benefícios advindos da inoculação, Ikhajiagbe et al. (2020) considera esses microrganismos como sendo também promotores do crescimento vegetal. O mecanismo responsável envolvido nesse processo é a redução dos níveis de estresses biótico e abiótico do ambiente e o maior fornecimento de nutrientes, melhorando a fitossanidade vegetal. Em troca, a planta fornece carboidratos que auxiliam o crescimento e a manutenção dos microrganismos.

Fortalecendo essa teoria, estudos realizados por Rodríguez e Fraga (1999), Jakobsen et al. (2005), Khan et al. (2007), Harvey et al. (2009) e Zaidi et al. (2009) comprovam que a inoculação de plantas com microrganismos solubilizadores do fosfato resultaram em melhores condições de estabelecimento para as plantas e, consequentemente, melhor crescimento e nutrição, sobretudo em condições de casa de vegetação.

Entretanto, como abordado por Alori et al. (2017), é preciso realizar mais estudos que avaliem a contribuição dessa tecnologia em condições de campo, além realizar a comunicação com os produtores agrícolas visando a sua adoção.

#### **1.4. O elemento fósforo e a cultura do milho**

A cultura do milho ocupa o segundo lugar em área produzida no Brasil e valor de produção. A Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) estima que a safra brasileira 22/23 deverá atingir cerca de 125,5 milhões de toneladas, numa área estimada de quase 21 milhões de hectares.

A deficiência de P na cultura do milho reduz a emissão e o crescimento das folhas. Com isso, há menor área foliar disponível, menor produção e acúmulo de carboidratos, prejudicando a formação e o desenvolvimento dos grãos (tamanho e qualidade fisiológica), reduzindo, em última instância, a produção final pela planta (MENGEL; KIRBY, 1987; MARTINS E MARTINS, 2019).

O trabalho de Tiritan et al. (2010) observou que, quando realizada apenas a adubação mineral, há uma correlação positiva entre as doses aplicadas de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> no solo e a fitomassa seca da parte aérea do milho. Ou seja, o aumento na dose aplicada do fertilizante fosfatado aumenta a fitomassa seca da parte aérea pela cultura, o que demonstra a essencialidade de se realizar corretamente a adubação fosfatada na cultura, visando alcançar adequados níveis de produtividade, especialmente diante do cenário mundial. Além disso, notou-se uma interação positiva também entre as doses aplicadas de fertilizantes fosfatados e o acúmulo de P na parte aérea do milho.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o desempenho das plantas de milho sob adubação com diferentes fontes e doses de fertilizantes fosfatados, tanto solúveis em água quanto de baixa solubilidade, associados ou não com microrganismos solubilizadores do fosfato inoculados no solo.

### 2.2. Objetivos específicos

Para tanto, os objetivos específicos do estudo foram:

- Avaliar a resposta da cultura de milho quando adubada com doses variáveis dos fertilizantes fosfatados;
- Comparar o efeito das fontes fosfatadas de diferentes níveis de solubilidade no desenvolvimento da cultura do milho, a partir da mensuração de parâmetros fenológicos, teores foliares dos nutrientes e características químicas do solo;
- Verificar o efeito da inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfato no solo sob o desenvolvimento da cultura, através da biometria e análise do teor de P presente no tecido foliar vegetal.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. Local de condução do experimento

O experimento foi conduzido durante os meses de dezembro do ano de 2019 e janeiro do ano de 2020, em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Ciência do Solo da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), campus da Universidade de São Paulo localizado em Piracicaba – SP.

O município se encontra a 22°42'30" de Latitude Sul e 47°38'01" de Longitude Oeste (RANZANI, 1976) e a sua classificação climática, segundo o sistema proposto por Köppen e Geiger (1936), é denominada como Cwa, caracterizado pelo clima tropical úmido com chuvas de verão e seca de inverno. Segundo Aguirre et al. (2020), as temperaturas máxima, média e mínima da cidade são, respectivamente, 17,7°C; 25,3°C; e 9,6°C.

### **3.2. Delineamento experimental e parâmetros adotados**

Para o desenvolvimento do experimento, o delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso, dispostos num esquema fatorial  $3 \times 4 \times 3$ , o qual contava com três diferentes fontes de P: superfosfato triplo (STP), fosfato natural de Araxá (FN) e fosfato natural reativo OCP Marrocos (FNR); quatro diferentes doses de P: 0, 50, 100 e 150 mg  $P_2O_5 \text{ kg}^{-1}$  solo; e três diferentes modos de inoculação: sem a inoculação de microrganismos; com a inoculação de microrganismos pertencentes ao gênero *Bacillus*; e com a aplicação do produto BiomaPhos. Foram adotadas quatro repetições por tratamento, totalizando 144 unidades experimentais. Ressalta-se que nos tratamentos controles não houve a adição de P, ou seja, representada pela dose 0 mg  $P_2O_5 \text{ kg}^{-1}$  solo para cada fertilizada utilizado. A Tabela 01 apresenta a relação dos tratamentos aplicados no experimento.

**Tabela 01.** Relação dos tratamentos aplicados na instalação do experimento, com os dados sobre fontes fosfatadas, doses e inoculação.

Tratamento	Fonte de P	Dose (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> kg <sup>-1</sup> solo)	Inoculação
1	FNR OCP Marrocos	0	sem inoculação
2	FNR OCP Marrocos	0	com inoculação
3	FNR OCP Marrocos	0	BiomaPhos
4	FNR OCP Marrocos	50	sem inoculação
5	FNR OCP Marrocos	50	com inoculação
6	FNR OCP Marrocos	50	BiomaPhos
7	FNR OCP Marrocos	100	sem inoculação
8	FNR OCP Marrocos	100	com inoculação
9	FNR OCP Marrocos	100	BiomaPhos
10	FNR OCP Marrocos	150	sem inoculação
11	FNR OCP Marrocos	150	com inoculação
12	FNR OCP Marrocos	150	BiomaPhos
13	FN Araxá	0	sem inoculação
14	FN Araxá	0	com inoculação
15	FN Araxá	0	BiomaPhos
16	FN Araxá	50	sem inoculação
17	FN Araxá	50	com inoculação
18	FN Araxá	50	BiomaPhos
19	FN Araxá	100	sem inoculação
20	FN Araxá	100	com inoculação
21	FN Araxá	100	BiomaPhos
22	FN Araxá	150	sem inoculação
23	FN Araxá	150	com inoculação
24	FN Araxá	150	BiomaPhos
25	Superfosfato Triplo	0	sem inoculação
26	Superfosfato Triplo	0	com inoculação
27	Superfosfato Triplo	0	BiomaPhos
28	Superfosfato Triplo	50	sem inoculação
29	Superfosfato Triplo	50	com inoculação
30	Superfosfato Triplo	50	BiomaPhos
31	Superfosfato Triplo	100	sem inoculação
32	Superfosfato Triplo	100	com inoculação
33	Superfosfato Triplo	100	BiomaPhos
34	Superfosfato Triplo	150	sem inoculação
35	Superfosfato Triplo	150	com inoculação
36	Superfosfato Triplo	150	BiomaPhos

A cultura teste selecionada para a avaliação do experimento foi o milho, cultivar AL Avaré, obtido a partir do cruzamento ao acaso de cultivares de ciclo semiprecoce e normal e que apresenta como características principais a baixa inserção de espigas, estabilidade produtiva, maior potencial produtivo e porte baixo

da planta, segundo informações do Departamento de Sementes, Mudas e Matrizes da Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI – DSMM), órgão associado à Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

Os microrganismos solubilizadores de fosfato inoculados no experimento pertencem ao gênero *Bacillus*, sendo selecionados mediante a um banco de dados preestabelecido no Laboratório de Microbiologia do Solo da ESALQ/USP, local em que foram previamente analisados quanto à atividade solubilizadora.

O produto BiomaPhos é um inoculante líquido desenvolvido pela empresa Simbiose em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) que contém as cepas BRM 119 (*Bacillus megaterium*) e BRM 2084 (*Bacillus subtilis*) e destaca-se como o primeiro produto brasileiro que visa a solubilização do P. Segundo a tecnologia, a solubilização do P acontece a partir da produção de ácidos orgânicos responsáveis por solubilizar o P retido ao cálcio, alumínio e ferro que estão localizados na porção do solo próxima às raízes da planta (rizosfera). Dessa maneira, o P migrará para a solução do solo, onde estará prontamente disponível para a absorção vegetal. De acordo com as informações do produto, o mesmo ainda deverá atuar na mineralização do P que está presente na matéria orgânica do solo, generalizado como fitato.

### **3.3. Coleta e preparo do solo**

O solo utilizado para o desenvolvimento do experimento foi coletado na área experimental da ESALQ/USP, próxima ao aeroporto municipal de Piracicaba – SP, instalado na Estrada de Monte Alegre. Este solo é classificado como um Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico Típico, com textura médio-arenosa. Previamente à instalação do experimento, o solo foi analisado quanto à sua granulometria e condição nutricional, segundo van Raij et al. (2001). As informações estão disponíveis na Tabela 02.

**Tabela 02.** Atributos químicos e granulometria do solo analisados anteriormente à instalação do experimento.

pH	P	K	S	Ca	Mg	Al	H + Al
CaCl <sub>2</sub>	----- mg dm <sup>-3</sup> -----			----- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			
4,9	5	< 30	6	1,3	0,5	0,2	1,6
SB	CTC	V	M	MO	Argila	Silte	Areia
---- cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> --	----- % -----			----- g kg <sup>-1</sup> -----			
1,9	3,5	54	10	16	173	91	736

Em seguida, o solo foi seco ao ar e peneirado em peneira com malha de 2 mm. Após a secagem e com os resultados das análises em mãos, o solo foi corrigido em todo seu volume com carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) e óxido de magnésio (MgO), além de terem sido realizadas aplicações de cloreto de potássio (KCl) e nitrato de amônio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>), seguindo as recomendações para a cultura do milho.

### 3.4. Montagem e condução do experimento

As unidades experimentais utilizadas foram compostas de vasos com a capacidade para 4 L, sendo preenchidos com 3 kg do solo corrigido e seco ao ar.

Após o período descrito de incubação do solo, realizou-se a aplicação dos tratamentos. Os grânulos do fertilizante superfosfato triplo foram moídos e todas as fontes fosfatadas foram aplicadas na forma de pó farelado. Com o auxílio de uma betoneira foram uniformemente misturadas ao solo, visando a correção do vaso em todo o seu volume.

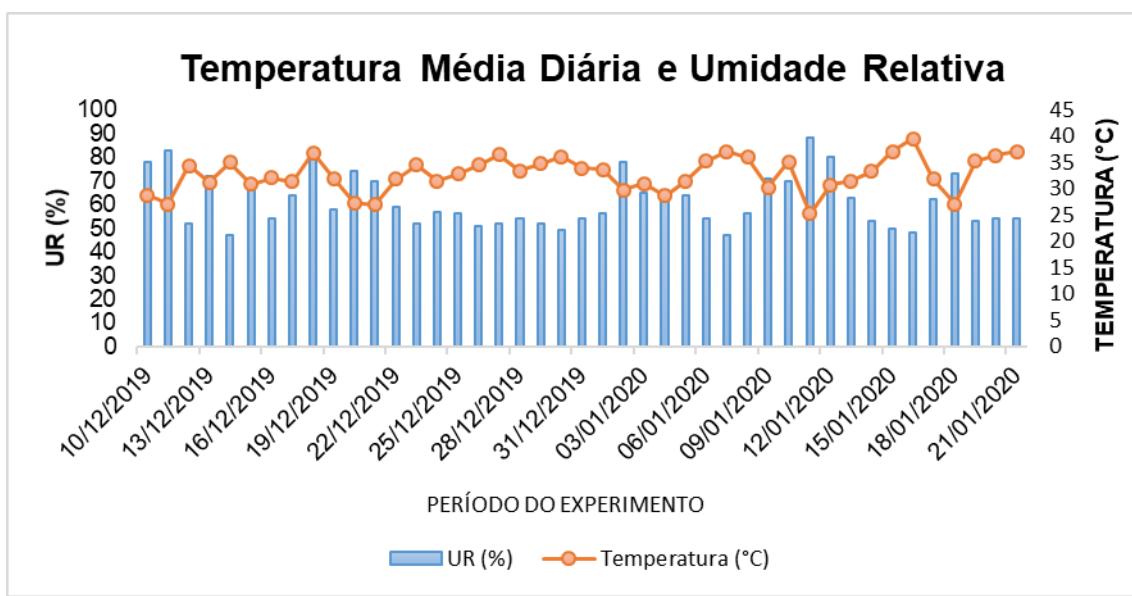
A inoculação dos microrganismos *Bacillus* spp. e a aplicação do produto BiomaPhos foram realizadas nas sementes de milho, misturando-as homogeneamente. Além disso, seguindo as recomendações do Laboratório de Microbiologia do Solo, os microrganismos também foram aplicados no momento da semeadura do milho, com aplicação via sulco de semeadura. A dose aplicada dos microrganismos *Bacillus* spp. foi definida em função da melhor resposta obtida pelos ensaios de solubilização que haviam sido realizados previamente ao experimento em questão. Já a dose aplicada do produto BiomaPhos foi realizada de acordo com as recomendações do fabricante, seguindo a dosagem de 100 mL do produto para cada 60.000 sementes.

Previamente à instalação do experimento, realizou-se o teste de capilaridade do solo para obter o valor da Capacidade Máxima de Retenção de Água pelo solo

(CMRA). Com isso, foi possível obter o valor da capacidade de campo e convencionou-se o ajuste da umidade para 60% da umidade da capacidade de campo. Desta maneira, as parcelas experimentais foram pesadas diariamente e, a fim de manter o peso ideal, eram irrigadas até atingir o valor adequado.

Semanalmente os vasos foram aleatorizados dentro dos blocos definidos, visando reduzir o efeito de posição da unidade experimental na bancada.

A temperatura média diária e a umidade relativa do ar (UR) foram monitoradas e registradas durante o período de condução do experimento. Os valores podem ser observados na Figura 01.



**Figura 01.** Dados climatológicos de temperatura média diária (°C) e umidade relativa do ar (%) durante o período de condução do experimento.

O experimento foi finalizado aos 35 dias após a emergência da cultura do milho, quando os seguintes parâmetros fenológicos vegetais foram avaliados: altura das plantas (mensurado com o auxílio de uma trena), diâmetro do colmo (mensurado com o auxílio de um paquímetro) e número de folhas (realizado através de contagem).

### 3.5. Análises realizadas no experimento

O material vegetal – parte aérea vegetal e sistema radicular – foi devidamente coletado, lavado e submetido à secagem em estufa com circulação de ar forçada, sob a temperatura de 65°C por 72 horas. Posteriormente, o material foi pesado e a parte aérea foi submetida à moagem das folhas em moinho tipo Wiley equipado com peneira com crivos de 1 mm. Concluída esta etapa, foram determinados os teores

foliares das amostras de N, P, K (potássio), Ca (cálcio), Mg (magnésio) e S (enxofre), seguindo a metodologia descrita por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Depois de concluído o experimento, coletou-se uma alíquota do solo dos vasos para a realização das análises químicas referentes à fertilidade do solo, sendo determinados os seguintes atributos: P, K, Ca e Mg, extraídos com resina trocadora aniónica e catiônica; pH determinado em  $\text{CaCl}_2$  (relação 1:2,5 entre o solo e a solução); H + Al (correlação ao índice SMP); e, matematicamente, foi determinado também a saturação por cátions básicos no solo (V%), segundo van Raij et al. (2001). Além disso, foi realizado o fracionamento sequencial de P, a fim de determinar as frações lábeis, moderadamente lábeis e não lábeis de P presente no solo.

O fracionamento sequencial de P foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Hedley, Stewart e Chauhan (1982), com modificações de Condron, Goh e Newman (1985). Para essa análise, pesou-se amostras de 0,5 g de solo, as quais foram submetidas aos seguintes extractores, em ordem sequencial:

- I. Resina de troca aniónica (RTA – lâmina de RTA com dimensões de 1,0 cm x 2,0 cm, imersa em 10 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  em contato direto com o solo), extraíndo a fração  $P_{\text{RTA}}$  inorgânico ( $P_{\text{RTA}}$ );
- II.  $\text{NaHCO}_3$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ , extraíndo as frações  $P_{\text{BIC}}$  inorgânico e orgânico ( $P_{\text{BIC}}$  e  $P_{\text{O BIC}}$ );
- III.  $\text{NaOH}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ , extraíndo as frações  $P_{\text{HID}0,1}$  inorgânico e orgânico ( $P_{\text{HID}0,1}$  e  $P_{\text{O HID}0,1}$ );
- IV.  $\text{HCl}$  1,0 mol  $\text{L}^{-1}$ , extraíndo a fração  $P_{\text{HCl}}$  inorgânico ( $P_{\text{HCl}}$ );
- V.  $\text{NaOH}$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ , extraíndo as frações  $P_{\text{HID}0,5}$  inorgânico e orgânico ( $P_{\text{HID}0,5}$  e  $P_{\text{O HID}0,5}$ ).

Dos extractos alcalinos ( $\text{NaHCO}_3$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NaOH}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  e  $\text{NaOH}$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ ), retirou-se uma alíquota para a determinação de  $P_{\text{TOTAL}}$  via digestão com persulfato de amônio ( $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) e ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) em autoclave, onde o resultado do P orgânico foi obtido através da diferença entre o P total e o P inorgânico. O solo residual foi submetido à digestão com ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) para a obtenção do P residual ( $P_{\text{RESIDUAL}}$ ).

O P presente nos extractos ácidos (extractores I e IV, além das digestões totais dos extractores II, III e V) foi quantificado seguindo a metodologia de Murphy e Riley

(1962). Para os extratos alcalinos (extratores II, III e V), a determinação do P inorgânico foi feita segundo a proposta de Dick e Tabatabai (1977).

Para as análises estatísticas dos resultados, foi utilizado o programa SAS 9.2 (Statistical Analysis System), sendo os parâmetros avaliados pela análise de variância ANOVA. Quando o teste F apresentou significância (ou seja, valor  $p > 0,05$ ), os resultados foram comparados pelo teste de média Tukey para os parâmetros qualitativos ou por modelos de regressão para os parâmetros quantitativos, sendo escolhido aquele de melhor ajuste. O programa Microsoft Excel foi utilizado para gerar os gráficos dos resultados.

#### **4. RESULTADOS**

A Tabela 03 apresenta a análise variância ANOVA para os parâmetros fenológicos da cultura do milho observados nos ensaios biométricos, que são: altura das plantas (Alt.), diâmetro do colmo (Diâm.), número de folhas (NF), massa seca da parte aérea (MS PA) e massa seca do sistema radicular (MS R).

Em relação às fontes testadas no experimento, houve diferença significativa para todos os parâmetros analisados; para as doses avaliadas, apenas o parâmetro relativo ao número de folhas não diferiu estatisticamente em relação às doses; e, por fim, quanto ao modo de inoculação, nota-se significância estatística para os parâmetros relativos ao diâmetro do colmo e para a massa seca da parte aérea.

Além disso, há interação significativa entre os fatores fonte x dose para todas as características, exceto para o número de folhas. Ademais, há significância estatística para a interação fonte x dose x inoculação para os parâmetros de diâmetro do colmo e massa seca da parte aérea.

**Tabela 03.** Análise de variância ANOVA dos parâmetros fenológicos da cultura do milho 35 dias após a emergência das plantas.

Parâmetros fenológicos da cultura					
Variação	Alt.	Diâm.	NF	MS PA	MS R
Fontes (F)	*	*	*	*	*
Doses (D)	*	*	ns	*	*
Inoculação (I)	ns	*	ns	*	ns
F x D	*	*	ns	*	*
F x I	ns	ns	ns	ns	ns
D x I	ns	ns	ns	ns	ns
F x D x I	ns	*	ns	*	ns
<b>CV (%)</b>	12,4	20,8	14,9	21,0	35,1
<b>D.M.S.</b>	6,4	0,1	0,4	1,6	0,9
<b>Média geral</b>	106,3	1,1	5,9	15,9	5,6

\* = significativo a 5% pelo teste F; ns = não significativo; CV = coeficiente de variação; D.M.S = diferença média significativa.

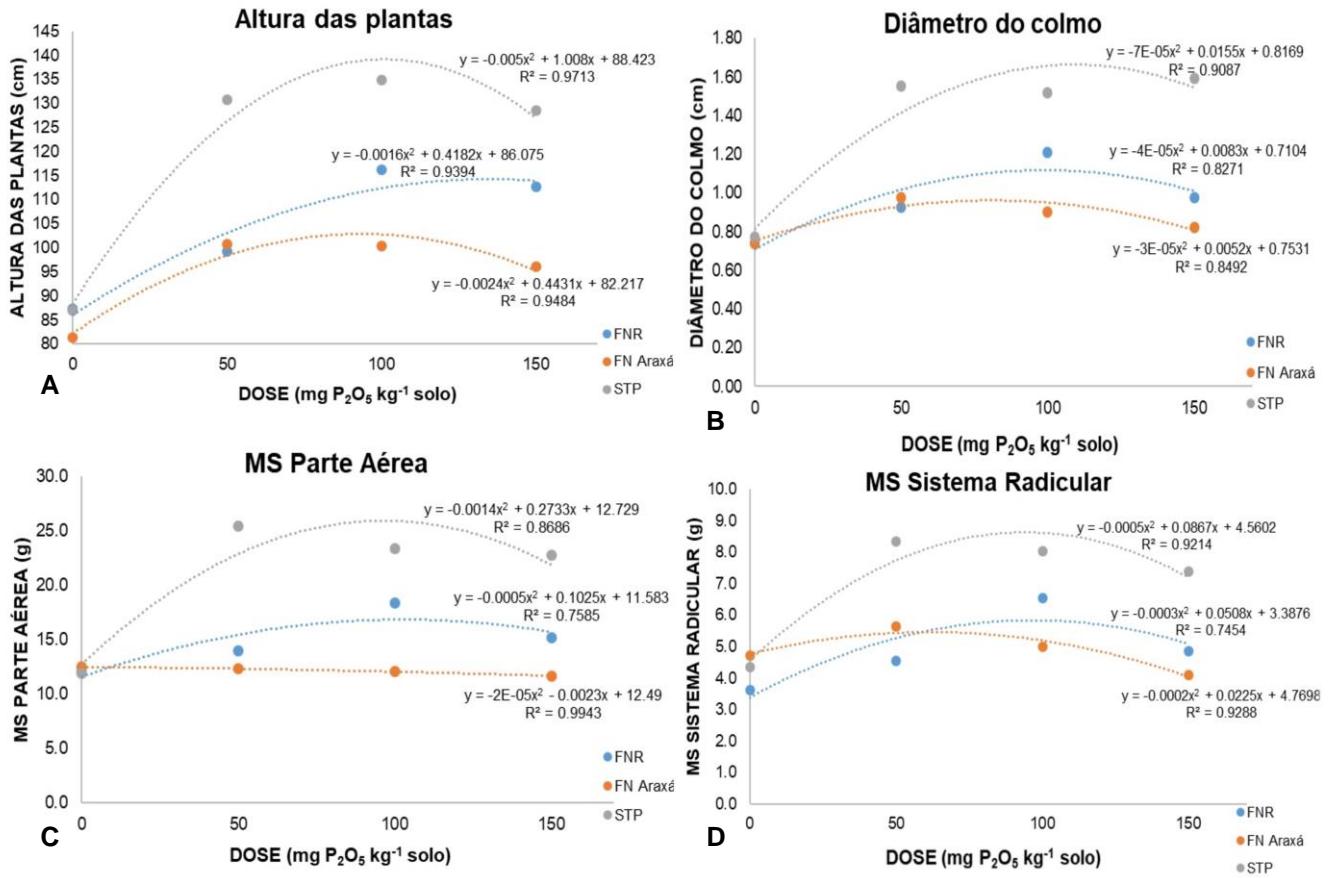
A tabela 04 apresenta as médias dos parâmetros fenológicos obtidas na cultura do milho durante o experimento. Com relação às fontes fosfatadas utilizadas, as médias do tratamento com STP foram superiores para todas as características em questão, com exceção do número de folhas. Nesse caso, o tratamento com a maior média foi obtido utilizando-se o FNR, diferindo estatisticamente do tratamento com FN Araxá.

**Tabela 04.** Média dos parâmetros fenológicos analisados nos ensaios biométricos para a cultura do milho 35 dias após a emergência das plantas.

Parâmetros fenológicos da cultura					
Tratamentos	Alt.	Diâm.	NF	MS PA	MS R
<b>Fontes de P</b>					
STP	120,2 A	1,4 A	5,8 AB	20,8 A	7,0 A
FNR	103,9 B	0,9 B	6,2 A	14,9 B	4,9 B
FN Araxá	94,7 C	0,9 B	5,7 B	12,1 C	4,9 B
<b>Inoculação</b>					
Sem inoc.	104,7 A	1,0 B	5,9 A	14,4 B	5,3 A
Com inoc.	106,9 A	1,2 A	6,0 A	16,5 A	5,9 A
BiomaPhos	107,2 A	1,1 B	5,8 A	17,0 A	5,6 A

Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

A figura 02 apresenta, respectivamente, os resultados dos desdobramentos da interação significativa entre fonte e dose para altura das plantas, diâmetro do colmo, massa seca da parte aérea e massa seca do sistema radicular.



**Figura 02.** Comportamento da interação fonte x dose das características das plantas de milho 35 dias após a emergência: altura das plantas de milho (A); diâmetro do colmo (B); massa seca da parte aérea (C); massa seca do sistema radicular (D).

Na tabela 05 está presente a análise de variância ANOVA para os macronutrientes analisados a partir do tecido foliar vegetal. Em relação às fontes fosfatadas testadas, com exceção do elemento N, houve diferença significativa para todos os nutrientes. Para as doses avaliadas no experimento, houve significância para os elementos P, K e Mg. Por fim, para a inoculação, houve diferença estatística para todos os nutrientes, exceto para o enxofre. Observa-se que há efeito da interação entre fonte e dose para os elementos P, Ca e Mg. Além disso, há significância estatística entre dose e inoculação para o elemento N e entre fonte x dose x inoculação para os elementos N e P.

**Tabela 05.** Análise de variância ANOVA de teores foliares de macronutrientes presentes na cultura do milho 35 dias após a emergência das plantas.

Teores foliares de macronutrientes						
Variação	N	P	K	Ca	Mg	S
Fontes (F)	ns	*	*	*	*	*
Doses (D)	ns	*	*		*	ns
Inoculação (I)	*	*	*	*	*	ns
F x D	ns	*	ns	*	*	ns
F x I	ns	ns	ns	ns	ns	ns
D x I	*	ns	ns	ns	ns	ns
F x D x I	*	*	ns	ns	ns	ns
<b>CV (%)</b>	28,7	23,5	35,9	26,9	27,9	32,8
<b>D.M.S.</b>	35,5	2,0	62,3	11,1	8,0	2,5
<b>Média geral</b>	219,2	15,3	307,3	72,6	50,7	13,6

\* = significativo a 5% pelo teste F; ns = não significativo; CV = coeficiente de variação; D.M.S. = diferença média significativa.

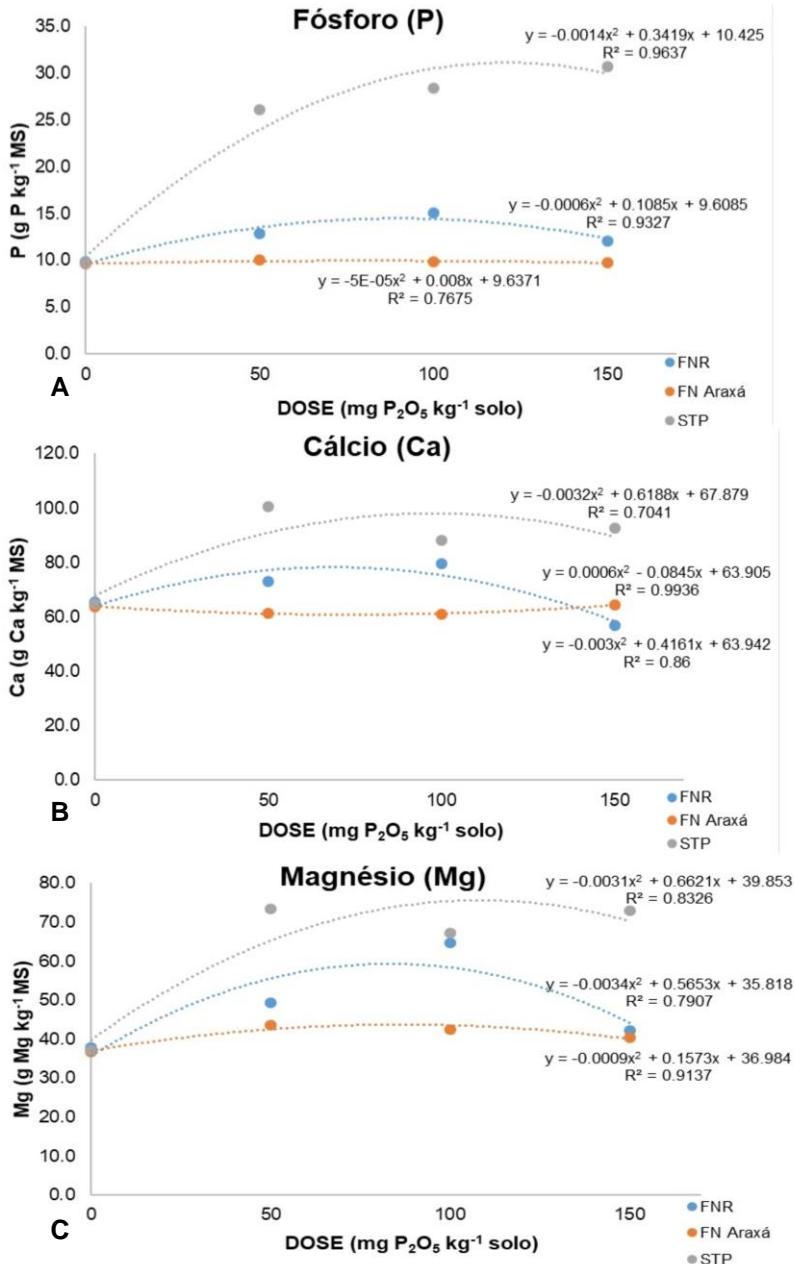
A tabela 06 contém os valores da análise nutricional foliar dos macronutrientes da cultura do milho.

**Tabela 06.** Média dos teores foliares de macronutrientes presentes na cultura do milho 35 dias após a emergência das plantas.

Teores foliares de macronutrientes						
Tratamentos	N	P	K	Ca	Mg	S
----- g kg <sup>-1</sup> -----						
<b>Fontes de P</b>						
STP	219,8 A	23,7 A	242,4 B	86,6 A	40,8 B	16,1 A
FNR	233,2 A	12,5 B	345,1 A	68,7 B	48,5 B	13,3 B
FN Araxá	204,5 A	9,8 C	334,2 A	62,6 B	62,7 A	11,3 B
<b>Inoculação</b>						
Sem inoc.	199,9 B	13,8 B	274,4 B	65,3 B	43,9 B	13,1 A
Com inoc.	221,1 BA	15,6 BA	298,4 BA	74,5 BA	52,8 A	13,2 A
BiomaPhos	236,5 A	16,6 A	349,0 A	78,1 A	55,3 A	14,4 A

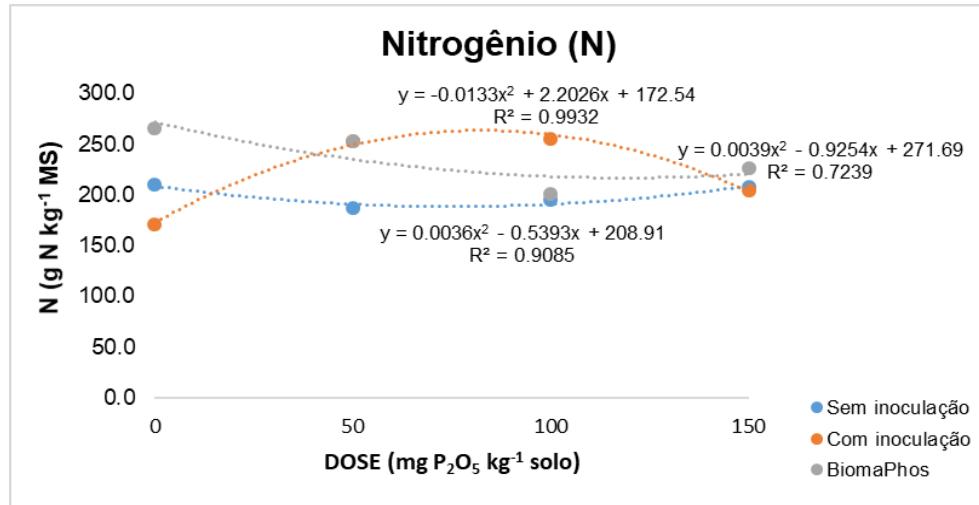
Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Na figura 03 são apresentados, respectivamente, os desdobramentos das interações estatísticas resultantes da análise do tecido foliar do milho para os seguintes macronutrientes: P, Ca e Mg.



**Figura 03.** Comportamento da interação fonte x dose para os macronutrientes presentes no tecido foliar vegetal da cultura do milho 35 dias após a emergência: P (A); Ca (B); Mg (C).

Na figura 04 é apresentado o desdobramento da interação estatística entre dose e inoculação resultante da análise do tecido foliar do milho para o macronutriente N.



**Figura 04.** Comportamento da interação dose x inoculação para o macronutriente N no tecido foliar vegetal da cultura do milho 35 dias após a emergência.

Os resultados da análise química do solo estão presentes na tabela 07. Com relação às fontes fosfatadas testadas no experimento, todas as variáveis apresentaram significância, com exceção de H+Al. Quanto às doses avaliadas, os valores diferiram significativamente para os nutrientes P, K, Ca e Mg, e para a soma de bases (SB). Já o modo de inoculação não apresentou diferença para nenhuma das variáveis testadas. Houve interação entre fonte x dose para os parâmetros P, Ca, Mg, soma de bases (SB) e saturação por bases (V%) e entre dose x inoculação para o parâmetro K.

**Tabela 07.** Análise de variância ANOVA da análise química do solo 35 dias após a emergência das plantas de milho.

Variação	Análise química da fertilidade do solo									
	pH	P mg dm <sup>-3</sup>	K	Ca	Mg mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	H + Al	SB	CTC	V %	
Fontes (F)	*	*	*	*	*	ns	*	*	*	*
Doses (D)	ns	*	*	*	ns	ns	*	ns	ns	ns
Inoculação (I)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F x D	ns	*	ns	*	*	ns	*	ns	*	*
F x I	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
D x I	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F x D x I	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>CV (%)</b>	<b>3,5</b>	<b>85,2</b>	<b>52,7</b>	<b>20,6</b>	<b>21,2</b>	<b>10,7</b>	<b>18,1</b>	<b>64,8</b>	<b>7,8</b>	
<b>D.M.S.</b>	<b>0,1</b>	<b>11,9</b>	<b>0,9</b>	<b>1,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,7</b>	<b>1,8</b>	<b>11,5</b>	<b>2,3</b>	
<b>Média Geral</b>	<b>4,9</b>	<b>28,9</b>	<b>0,8</b>	<b>15,2</b>	<b>5,0</b>	<b>13,4</b>	<b>20,9</b>	<b>36,4</b>	<b>60,1</b>	

\* = significativo a 5% pelo teste F; ns = não significativo; CV = coeficiente de variação; D.M.S = diferença média significativa.

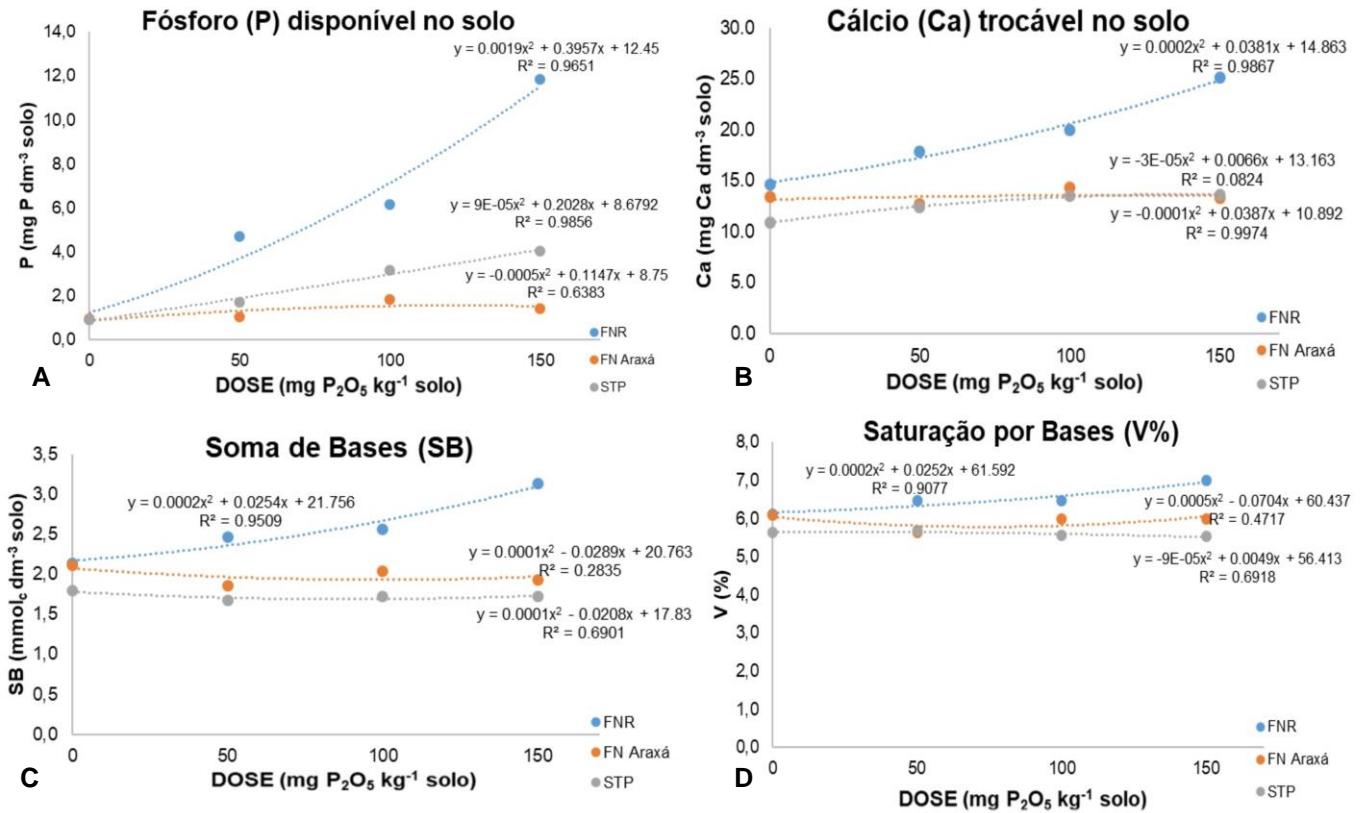
Na tabela 08, são apresentadas as médias dos parâmetros de fertilidade do solo analisados quimicamente. Com relação às fontes fosfatadas, os tratamentos com STP apresentaram médias inferiores ou similares àquelas obtidas com a aplicação dos fosfatos naturais.

**Tabela 08.** Média dos parâmetros da análise química do solo 35 dias após a emergência das plantas de milho.

Tratamentos	Análise química da fertilidade do solo								
	pH CaCl <sub>2</sub>	P mg dm <sup>-3</sup>	K	Ca	Mg	H + Al mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	SB	CTC	V %
<b>Fontes de P</b>									
STP	4,8 C	24,3 B	0,6 C	12,6 B	4,1 B	13,5 A	17,3 C	30,8 B	55,90 C
FNR	5,0 A	50,2 A	0,8 B	19,4 A	5,6 A	13,3 A	25,8 A	45,1 A	65,10 A
FN Araxá	4,9 B	12,5 B	1,1 A	13,4 B	5,4 A	13,5 A	19,9 B	33,4 B	59,30 B
<b>Inoculação</b>									
Sem inoc.	4,9 A	27,3 A	0,8 A	15,4 A	5,1 A	13,3 A	21,3 A	40,6 A	60,6 A
Com inoc.	4,9 A	25,9 A	0,8 A	14,5 A	4,9 A	13,7 A	20,3 A	34,0 A	59,2 A
BiomaPhos	5,0 A	33,7 A	0,9 A	15,5 A	5,0 A	13,4 A	21,4 A	34,7 A	60,6 A

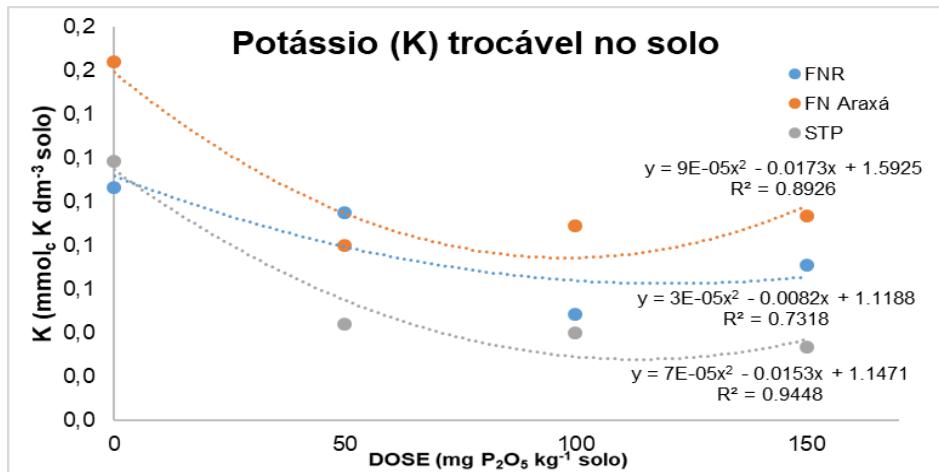
Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Na figura 05 são apresentados, respectivamente, os desdobramentos estatísticos das interações entre fonte e dose para os resultados quantitativos dos teores de P e Ca presentes no solo, além da soma de bases e saturação por bases. Nota-se que o aumento da dose de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, independentemente da fonte analisada, resultou no acréscimo dos valores médios das variáveis citadas. Nesses casos, a maior dose testada (150 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo) resultou nos maiores valores.



**Figura 05.** Comportamento da interação fonte x dose para os teores dos parâmetros químicos do solo 35 dias após a emergência das plantas de milho: P (A); Ca (B); SB (C); V% (D).

A figura 06 apresenta o desdobramento estatístico resultante da interação dose x inoculação para o elemento K trocável presente no solo.



**Figura 06.** Comportamento da interação dose x inoculação para o teor de K trocável presente no solo 35 dias após a emergência das plantas de milho.

A tabela 09 apresenta a análise de variância ANOVA para as frações de P advindas do fracionamento sequencial. Os resultados indicam que houve significância estatística para as fontes testadas nas frações  $P_{IRTA}$ ,  $P_{IBIC}$ ,  $P_{IHID\ 0,1}$ ,  $P_{IHCl}$  e  $P_{OHID\ 0,5}$ . Para as doses aplicadas, houve significância nas frações  $P_{IRTA}$ ,  $P_{IBIC}$ ,  $P_{OBIC}$ ,  $P_{IHID\ 0,1}$ ,  $P_{IHCl}$ ,  $P_{IHID\ 0,5}$  e  $P_{TOTAL}$ . Por fim, a inoculação apresentou significância apenas para a fração  $P_{OBIC}$ .

Além disso, houve interação estatística entre os parâmetros fonte x dose para as frações  $P_{IRTA}$ ,  $P_{IBIC}$ ,  $P_{OBIC}$ ,  $P_{IHID\ 0,1}$ ,  $P_{IHCl}$ , e  $P_{IHID\ 0,5}$  e também entre os parâmetros inoculação x dose para a fração  $P_{IHCl}$ .

**Tabela 09.** Análise de variância ANOVA da análise de fracionamento de P do solo 35 dias após a emergência das plantas de milho.

Causa da variação	Fracionamento de P									
	Pi <sub>RTA</sub>	Pi <sub>BIC</sub>	Po <sub>BIC</sub>	Pi <sub>HID\ 0,1</sub>	Po <sub>HID\ 0,1</sub>	Pi <sub>HCl</sub>	Pi <sub>HID\ 0,5</sub>	Po <sub>HID\ 0,5</sub>	P <sub>RESIDUAL</sub>	P <sub>TOTAL</sub>
----- mg kg <sup>-1</sup> -----										
Fontes (F)	*	*	ns	*	ns	*	ns	*	ns	ns
Doses (D)	*	*	*	*	ns	*	*	ns	ns	*
Inoculação (I)	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F x D	*	*	*	*	ns	*	*	ns	ns	ns
F x I	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
D x I	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
F x D x I	ns	*	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns
<b>CV (%)</b>	42,4	24,3	50,6	34,3	58,0	27,6	27,3	48,5	17,8	17,3
<b>D.M.S.</b>	1,2	1,0	1,6	10,0	12,7	0,8	0,9	5,5	2,1	15,7
<b>Média Geral</b>	5,8	8,5	6,5	60,1	45,1	6,1	6,7	23,5	24,2	186,6

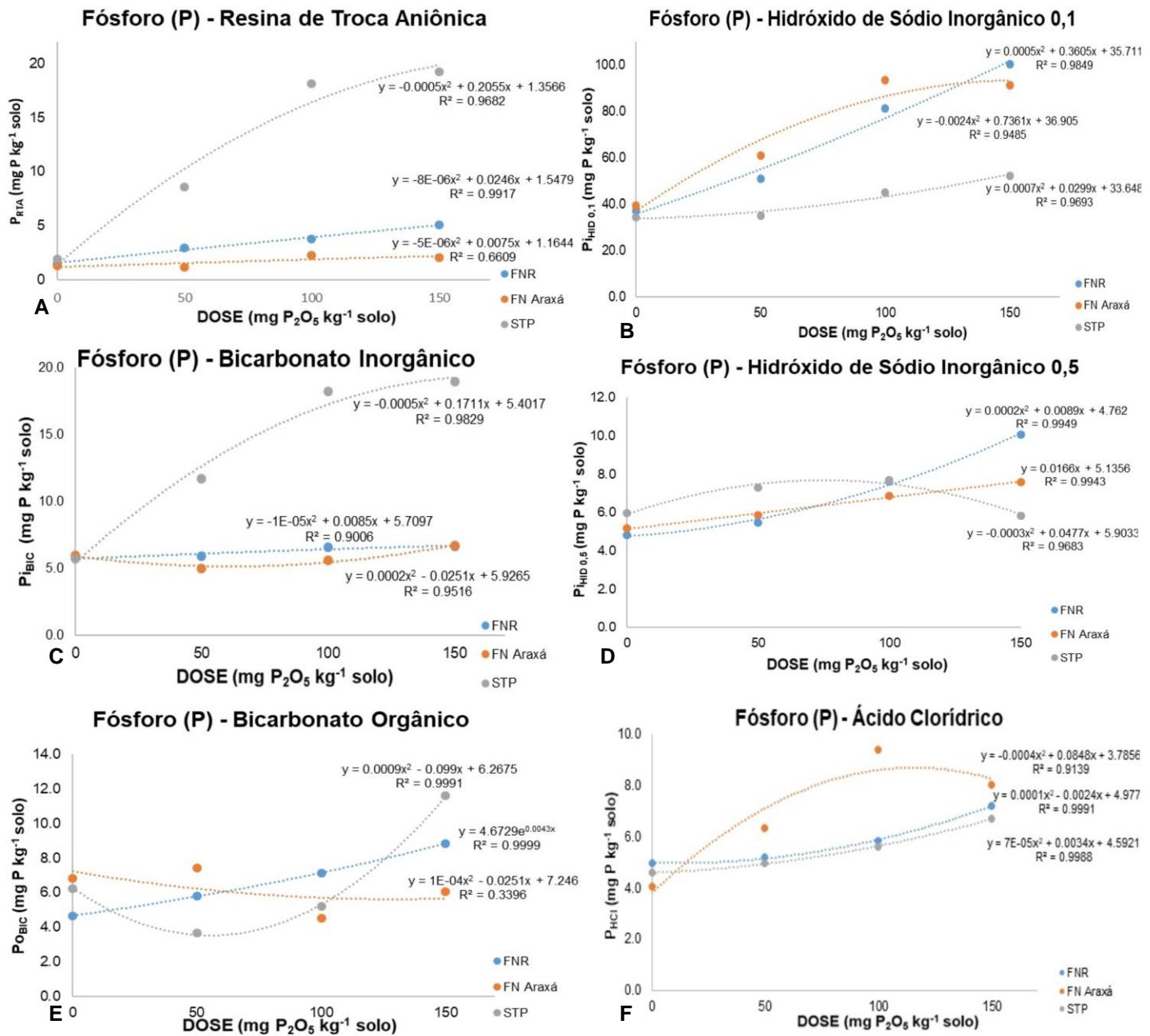
\* = significativo a 5% pelo teste F; ns = não significativo; CV = coeficiente de variação; D.M.S. = diferença média significativa.

A tabela 10 apresenta as médias das frações de P resultantes da análise de fracionamento realizado ao final do experimento.

**Tabela 10.** Média dos parâmetros da análise de fracionamento de P do solo 35 dias após a emergência das plantas de milho.

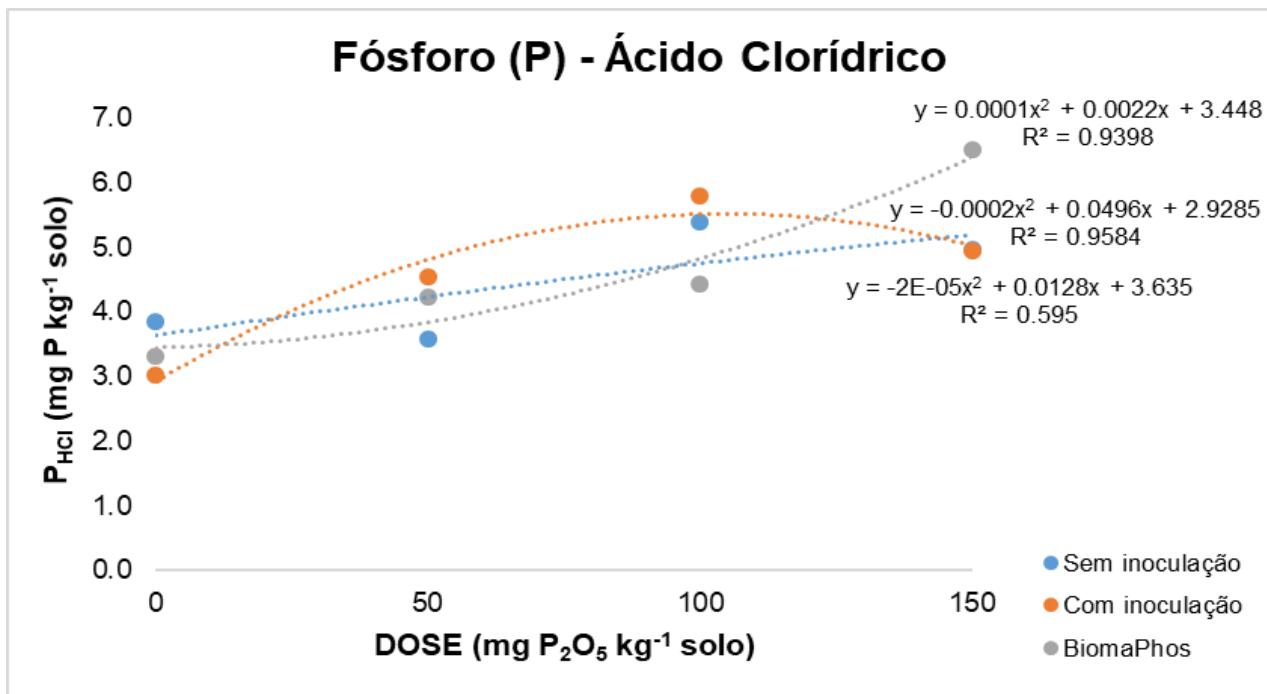
Tratamentos	Fracionamento de P									
	Pi RTA	Pi BIC	Po BIC	Pi HID0,1	Po HID0,1	Pi HCl	Pi HID0,5	Po HID0,5	P RESIDUAL	P TOTAL
----- mg kg <sup>-1</sup> -----										
<b>Fontes de P</b>										
STP	12,3 A	13,5 A	6,7 A	41,6 B	50,0 A	5,5 B	6,7 A	25,8 A	23,8 A	185,7 A
FNR	3,3 B	6,2 B	6,6 A	67,4 A	41,2 A	5,8 B	7,0 A	18,7 B	23,6 A	180,9 A
FN Araxá	1,7 C	5,8 B	6,2 A	71,2 A	44,0 A	6,9 A	6,4 A	25,9 A	25,1 A	193,3 A
<b>Inoculação</b>										
Sem inoc.	5,9 A	8,8 A	6,7 AB	63,3 A	42,5 A	5,9 A	6,7 A	23,8 A	24,4 A	189,0 A
Com inoc.	5,7 A	8,6 A	5,4 B	58,1 A	45,6 A	6,1 A	6,9 A	22,6 A	24,2 A	183,1 A
BiomaPhos	5,7 A	8,1 A	7,4 A	58,8 A	47,2 A	6,2 A	6,5 A	24,0 A	23,9 A	187,9 A

A figura 07 apresenta os desdobramentos das interações estatísticas presentes na análise do fracionamento de P entre os parâmetros fonte x dose.



**Figura 07.** Comportamento da interação fonte x dose para as frações de P fração  $P_{iHCl}$  extraídas no fracionamento 35 dias após a emergência das plantas de milho:  $P_{iRTA}$  (A);  $P_{iBIC}$  (B);  $P_{oBIC}$  (C);  $P_{iHID\ 0,1}$  (D);  $P_{iHID\ 0,5}$  (E);  $P_{iHCl}$  (F).

De acordo com a figura 08, a fração  $P_{iHCl}$  também resultou em interação positiva entre os parâmetros inoculação x dose, sendo que os tratamentos com a presença de microrganismos geraram os maiores resultados, especialmente na dose 150 mg  $P_2O_5\ kg^{-1}$  solo.



**Figura 08.** Comportamento da interação inoculação x dose para a fração  $P_{HCl}$  extraída no fracionamento 35 dias após a emergência das plantas de milho.

## 5. DISCUSSÃO

De acordo com os resultados encontrados a partir das análises biométricas dos parâmetros fenológicos, infere-se que o STP foi a fonte fosfatada responsável pelos melhores valores do experimento, quando comparado com os fosfatos naturais (FN Araxá e FNR), condizendo com os resultados encontrados por Harger et al. (2007). Quando utilizado esse fertilizante, as principais características beneficiadas foram a altura das plantas de milho, diâmetro do colmo e a massa seca da parte aérea, resultados que também estão de acordo com o trabalho desenvolvido por Nascimento et al. (2014). A possível explicação para a média superior encontrada nos tratamentos que utilizaram o STP como fonte fosfatada deve-se à solubilidade do mesmo, uma vez que, por ser prontamente solúvel, disponibiliza rapidamente o nutriente na solução do solo, ou seja, passível de absorção pelas plantas.

As fontes menos solúveis utilizadas no experimento (FNR e FN Araxá) limitaram o desenvolvimento inicial da cultura do milho. Como resultado, as menores médias de altura das plantas, diâmetro do colmo, massa seca da parte aérea e massa seca do sistema radicular foram obtidas nos tratamentos que utilizaram essas duas fontes. Ressalta-se que todos esses parâmetros citados diferiram estatisticamente entre as fontes presentes no experimento. Possivelmente isso pode ser explicado pela velocidade lenta de solubilização e disponibilização do P

presente, o qual passa gradativamente para a solução do solo. Dessa maneira, o tempo que o experimento foi mantido não foi suficiente para que o elemento fosse disponibilizado integralmente na solução do solo (Harger et al., 2007).

Os valores dos parâmetros altura de plantas, diâmetro do colmo, massa seca da parte aérea e massa seca do sistema radicular tiveram aumentos conforme as doses tornaram-se maiores. Esses resultados também foram encontrados por Harger et al. (2007), Silva (2019) e Santos et al. (1996), onde a adição de P no solo aumentou não somente a massa seca da parte aérea e do sistema radicular, como também o comprimento radicular. Os resultados obtidos indicam que o aumento na dose de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, independentemente da fonte, foi capaz de promover maiores valores dos parâmetros citados anteriormente. Provavelmente esse efeito deve-se ao incremento do P disponível no sistema, uma vez que o elemento apresenta relação direta com o crescimento das plantas, até que se atinja a faixa na qual o crescimento vegetal manter-se-ia constante ou seria reduzido (Harger et al., 2007).

No que diz respeito à inoculação dos microrganismos solubilizadores de fosfato, houve efeito estatístico significativo para os parâmetros referentes ao diâmetro do colmo e massa seca da parte aérea, o que está de acordo com o trabalho de Almeida et al. (2016), no qual a presença de microrganismos promoveu maior crescimento das plantas de milho, o que demonstra a capacidade dos microrganismos afetarem a dinâmica do P presente no solo, atuando como solubilizadores de fosfato e, consequentemente, como promotores do crescimento, favorecendo o incremento de biomassa pela cultura. Por outro lado, Kucmanski et al. (2015) também não observou diferença estatística no valor médio de número de folhas de videiras, assim como ocorreu com a cultura do milho nesse experimento.

O teor de P presente na análise nutricional da massa seca foliar da parte aérea foi superior nos tratamentos cuja fonte aplicada foi o STP, de acordo com os resultados apresentados por Harger et al. (2007), o que pode vir a significar uma melhor nutrição da planta devido à maior velocidade de liberação do elemento presente nesse tipo de fertilizante, considerado uma fonte solúvel em água, de tal forma que as raízes da cultura possam absorver-lo prontamente e redistribuí-lo por toda a biomassa da cultura, elevando os teores foliares do nutriente. Com isso, o STP pode garantir um melhor estabelecimento e desenvolvimento inicial para a cultura, gerando as maiores médias dos teores de P.

As plantas de milho que receberam FN Araxá como fonte fosfatada apresentaram os menores valores de concentração de P na parte aérea, possivelmente devido à lenta reação de dissolução desse fertilizante no solo, o que atrasa também a quantidade de nutriente disponível na solução do solo para a absorção radicular e, consequentemente, minimiza o teor de P presente no tecido foliar. Por sua vez, o FNR é a fonte fosfatada que apresenta reatividade intermediária dentre as três fontes utilizadas no experimento, condizendo com médias intermediárias obtidas na comparação entre os tratamentos.

Segundo Grant et al. (2001), quando a cultura do milho enfrenta a deficiência nutricional de P, há a menor área foliar, o que afeta a emergência de raízes e reduz a capacidade de absorção do nutriente pela planta. Essa observação condiz com os resultados presentes no experimento, no qual menores doses de P reduziram os teores foliares do elemento.

De acordo com os resultados da inoculação nos teores nutricionais presentes na parte aérea do milho, nota-se que houve uma interação positiva. Com exceção do S, todos os demais nutrientes foram beneficiados, seja pela inoculação dos microrganismos do gênero *Bacillus* ou pela aplicação do produto BiomaPhos. Uma possível explicação para esse resultado é que os microrganismos podem ter atuado na solubilização e disponibilização dos elementos presentes no solo ou na formulação dos fertilizantes via atividade enzimática. Por exemplo, solubilizando as formas minerais ou mineralizando as formas orgânicas insolúveis de P; auxílio para a fixação do N; e na solubilização dos demais nutrientes. Como consequência, há uma melhoria geral nas condições do solo para o estabelecimento e desenvolvimento da cultura do milho, contribuindo para que a absorção dos nutrientes fosse superior nos tratamentos em que foi realizada a inoculação microbiana.

Analizando o desdobramento fonte x dose para o acúmulo do macronutriente P no tecido vegetal, nota-se que o aumento na dose de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> no solo resultou no aumento do teor foliar do elemento, sendo que a dose 100 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo foi responsável pelas maiores médias, como é observado na figura 03 (A). O estudo realizado por Tiritan et al. (2010) corrobora com essa observação. Também se nota que o STP é a fonte fosfatada que forneceu os maiores valores médios desse nutriente, o que está de acordo com o estudo realizado por Harger et al. (2007).

Ao analisar a figura 03 (B) e, recordando que o STP também é considerado uma fonte do elemento Ca, é possível inferir que essa é a provável razão pela qual a sua concentração foliar foi superior nos tratamentos que utilizaram essa fonte fosfatada. Além disso, a dose 50 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo foi a responsável pela maior absorção de Ca pela planta de milho.

De acordo com a figura 03 (C), observa-se novamente a interação entre fonte e dose utilizada, de maneira que o fertilizante STP atingiu as maiores concentrações foliares para o nutriente Mg na dose 100 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo.

No que diz respeito aos resultados da inoculação microbiana, constando na figura 04, a presença dos organismos resultou em aumentos nos teores foliares dos macronutrientes N e P, resultados que foram observados por Araújo (2008) em experimento com a mesma cultura. Segundo Lima et al. (2011), uma provável explicação para o aumento no teor de nitrogênio é a maior quantidade de raízes presentes para a exploração de um maior volume do solo e absorção do nutriente, além da importância que o P apresenta para a fisiologia vegetal, no que diz respeito aos processos que demandam energia disponível, como a assimilação e absorção de nitrogênio.

Nota-se que a inoculação de microrganismos e aplicação do produto BiomaPhos beneficiaram a dinâmica do elemento K, aumentando o seu teor. Segundo Gupta et al. (2015), os microrganismos possuem mecanismos de solubilização de K, o que pode explicar o acréscimo observado. Por outro lado, o aumento na dose aplicada de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> não resultou em ganhos, sendo que a maior média encontrada para o elemento K foi com a dose testada de 0 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo.

Em estudo realizado por Lima et al. (2011), ao trabalhar com a cultura do pinhão manso, foi observado que, a adição do fertilizante fosfatado, quando comparado com o tratamento controle (dose 0 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo) aumentou também o teor de todos os macronutrientes no tecido foliar vegetal. Nesse experimento, os resultados indicaram aumentos nas quantidades de P, cálcio e magnésio, o que também foi visualizado no estudo desenvolvido por Tiritan et al. (2010), no qual houve uma correlação positiva entre as doses crescentes aplicadas de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> via fertilizantes fosfatados e o acúmulo de P pela parte aérea das plantas de milho.

No fracionamento de P, o primeiro extrator utilizado é a resina trocadora aniônica (RTA), responsável por extrair o P prontamente disponível para as plantas, ou seja, aquele presente na solução do solo e que concentra a fração lável do

elemento. Observa-se que, quando a fonte testada é o STP, os valores são superiores e diferem estatisticamente das demais fontes. Isso pode ser explicado pela elevada reatividade desse fertilizante, o qual é caracterizado como uma fonte solúvel. Ademais, as maiores doses resultaram nas maiores médias dessa fração, como está presente na figura 07 (A).

Em seguida, o P é extraído via  $\text{NaHCO}_3$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ , representada pela fração  $\text{P}_{\text{BIC}}$ , caracterizada como a fração lável de P não extraída pela resina, uma vez que está fracamente adsorvida na superfície cristalina dos minerais. Novamente, nota-se que os valores obtidos nos tratamentos com STP foram superiores e diferiram estatisticamente dos valores encontrados nos tratamentos com FN Araxá e FNR, sendo que as maiores doses resultaram em maiores médias para todas as fontes testadas – figuras 07 (B) e (C). O P também pode estar compartimentalizado na fração orgânica do solo, diferindo quanto à sua disponibilidade para absorção pelas plantas, o que é representado pelos diferentes extractores utilizados durante o fracionamento. No caso do P orgânico extraído por bicarbonato de sódio ( $\text{P}_{\text{BIC}}$ ), os tratamentos diferiram exclusivamente quanto ao modo de inoculação, sendo que as médias foram superiores quando aplicado o produto BiomaPhos.

A próxima etapa do fracionamento tem como extrator  $\text{NaOH}$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ , usado para obter as frações inorgânicas e orgânicas com ligação intermediária de energia, o que caracteriza a fração conhecida como P moderadamente lável. Nesse caso, houve uma diferença estatística significativa quanto à fonte usada, sendo que os fosfatos naturais apresentaram resultados superiores ao STP, o que pode ser explicado pelo depósito de P na fração moderadamente lável, uma vez que grande parte do fosfato presente nesse fertilizante não migra instantaneamente para a solução do solo. Independentemente da fonte, as maiores doses geraram os maiores resultados, o que pode ser visualizado na figura 07 (D). Por outro lado, a fração orgânica moderadamente lável não diferiu entre si.

Na sequência, é utilizado o HCl, capaz de extrair as formas inorgânicas do P consideradas também como uma fração moderadamente lável. Assim, o FN Araxá diferiu significativamente das demais fontes, apresentando o valor superior para essa fração.

Por fim, extraí-se o P inorgânico por meio de  $\text{NaOH}$  0,5 mol  $\text{L}^{-1}$ , obtendo-se a fração não lável de P, ou seja, aquela com alta energia de ligação. Contudo, os tratamentos não diferiram entre si nessa fração. A fração orgânica extraída com

$\text{NaOH 0,5 mol L}^{-1}$  ( $\text{P}_{\text{OHID 0,5}}$ ) apresenta elevada estabilidade no solo devido à alta energia envolvida nessas ligações. Nesse caso, o tratamento cuja fonte foi FNR apresentou os menores valores.

A fração seguinte corresponde ao  $\text{P}_{\text{RESIDUAL}}$ , fração que não foi extraída pelos extratores anteriores do fracionamento sequencial. Observa-se que não houve diferença estatística significativa quanto à fonte ou inoculação utilizadas.

Finalmente, a soma das frações anteriores resulta na fração  $\text{P}_{\text{TOTAL}}$ , a qual também não apresentou diferença entre os tratamentos.

Quanto à análise de fracionamento de P, assim como os resultados encontrados por Araújo e Salcedo (1997) e Tokura et al. (2002), as frações que mais contribuíram para o P moderadamente lábil foram  $\text{P}_{\text{HID 0,1}}$  e  $\text{P}_{\text{OHID 0,1}}$ , que apresentaram valores significativos quando comparados com os extratos anteriores. Isso pode ter acontecido devido ao acúmulo de P vindo de restos culturais, bem como indicar uma tendência de migração da fração lábil de P do solo para a fração moderadamente lábil, de maneira a constituir a chamada “reserva de P do solo” (PAVINATO et al., 2020). Esses resultados condizem com aqueles encontrados por Carneiro et al. (2011), quando estudou a sucessão entre as culturas do feijoeiro com braquiária e também por Martins e Martins (2019), ao estudar o uso de substâncias húmicas para melhorar a eficiência de fosfatos solúveis reativos. Ambos os autores encontraram também os maiores valores desses parâmetros para as fontes solúveis testadas, como o STP.

Como visualizado nesse experimento, o aumento da dose aplicada de  $\text{P}_2\text{O}_5$  resultou em aumentos nos teores de  $\text{P}_{\text{HID 0,1}}$ . Essa observação está de acordo com o experimento realizado por Almeida e Rosolem (2016).

Segundo Cross e Schlesinger (1995), a fração de P extraída por meio do HCl é responsável por formas de P inorgânicas moderadamente lábeis. Portanto, espera-se que essa interação seja maior nos fosfatos naturais, uma vez que são fontes conhecidas de P não prontamente solúvel. Essa pressuposição condiz com os resultados encontrados nesse trabalho também. Quando comparados os extratores responsáveis pela fração moderadamente lábil de P no solo, nota-se que o  $\text{P}_{\text{HCl}}$  gerou os menores valores. Resultados similares foram encontrados na literatura por Pavinato et al. (2009) e Martins e Martins (2019).

Em relação aos resultados da análise química do solo, o teor de cálcio encontrado foi maior nos tratamentos cuja fonte fosfatada aplicada foi o FN. Esse

fertilizante precisa apresentar, no mínimo, 20% de óxido de cálcio (CaO) em sua composição, de acordo com a legislação brasileira, o que contribui para que as médias de SB, CTC e V% fossem maiores com a aplicação desse tipo de fosfato. Resultados semelhantes foram encontrados também por Martins e Martins (2019).

Quanto à interação fonte x dose, doses crescentes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> foram benéficas para SB, CTC e V%, em qualquer uma das três fontes analisadas.

As doses superiores de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> resultaram em redução no teor de potássio presente no solo, o que também já foi relatado na literatura por Duarte et al. (2017). De acordo com o mesmo, pode ter acontecido uma interação entre os dois macronutrientes, de maneira que os níveis crescentes de P no solo inibiram a absorção de potássio pela planta.

Por sua vez, o teor de P disponível no solo se elevou conjuntamente com a aplicação das doses superiores de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Essa fração de P é mensurada através do extrator resina aniônica (Pi<sub>RTA</sub>) e os resultados passaram de 1,60 mg P dm<sup>-3</sup> no tratamento controle (0 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo) para 8,80 mg P dm<sup>-3</sup> no tratamento cuja dose aplicada foi 150 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg<sup>-1</sup> solo. De acordo com o estudo de Santos et al. (1996), a provável consequência disso será o incremento da massa seca da parte aérea da planta, fato que pode ser comprovado por esse trabalho e pelo trabalho desenvolvido por Tiritan et al. (2010), no qual o aumento na dose aplicada do fertilizante fosfatado condicionou aumentos no peso seco da fitomassa da parte aérea de plantas de milho, o que demonstra a essencialidade de realizar a adubação fosfatada em níveis adequados na cultura do milho, a fim de alcançar, em último estágio, os níveis desejados de produtividade.

Por fim, o teor de P disponível no solo, mesmo não resultando em diferença estatística significativa, foi maior nos tratamentos que receberam a inoculação de microrganismos, seja aquele testado no laboratório da ESALQ ou aqueles presentes no produto BiomaPhos. Tais resultados também foram comprovados por Almeida et al. (2016).

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados nesse trabalho demonstram que, de maneira geral, o STP é a fonte fosfatada que forneceu as melhores condições para o estabelecimento e o crescimento inicial para a cultura do milho, como visualizado a

partir dos dados fenológicos quantitativos mensurados a partir da análise biométrica da cultura.

A inoculação com microrganismos, seja associado com fontes fosfatadas solúveis em água ou com fosfatos reativos, gerou médias superiores de parâmetros fenológicos e do acúmulo de P no tecido foliar vegetal, o que demonstra o efeito benéfico e promissor desempenhado por essa biotecnologia.

## REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, A. F. F.; NOGUEIRA, D. A.; BEIJO, L. A. Análise da temperatura máxima de Piracicaba (SP) via distribuição gev não estacionária: uma abordagem bayesiana. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 27, p. 496-517, 2020. <http://dx.doi.org/10.5380/abclima.v27i0.73763>.
- ALMEIDA, C. N. S.; SANTOS, F. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; FREITAS, A.; PAIVA, C. A. O. Adubação organomineral em associação com microrganismos solubilizadores de P no milheto. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 147)
- ALMEIDA, D.S.; ROSOLEM, C.A. Ruzigrass grown in rotation with soybean increases soil labile phosphorus. **Agronomy Journal**, Madison, v. 108, n. 6, p. 2444-2452, 2016.
- ALORI, E. T.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017. DOI 10.3389/fmicb.2017.00971
- ANDREOTE, F. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Introdução à biologia do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. Piracicaba: Editora da Universidade de São Paulo, 2016, p. 9-22.
- ARAUJO, F. F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 456-462, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000200017>
- ARAÚJO, M.S.; SALCEDO, I.H. Formas preferenciais de acumulação de P em solos cultivados com cana-de-açúcar na região nordeste. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 21, p. 643-650, 1997.

BINGHAM, F.T. Phosphorus. In: CHAPMAN, H.D. **Diagnostic criteria for plants and soils**, 1966. p.324-361.

CANHOS, V. P. (Coord.). **Estratégia nacional de diversidade biológica: microrganismos e biodiversidade do solo**. Microrganismos e biodiversidade do solo. Campinas: Ministério do Meio Ambiente, 1998.

CARNEIRO, L. F.; DE RESENDE, A. V.; FURTINI NETO, A. E.; SANTOS, J. Z.; CURI, N.; REIS, T. H.; DO VALLE, L. A. Frações de fosforo no solo em resposta a adubação fosfatada em um Latossolo com diferentes históricos de uso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 483-491, 2011.

CATI - DSMM. **Evolução das cultivares de milho variedade “AL” produzidas pela CATI**. 2010.

CONDRON, L.M.; GOH, K.M.; NEWMAN, R.H. Nature and distribution of soil phosphorus as revealed by a sequential extraction method followed by  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance analysis. **European Journal of Soil Science**, New Jersey, v. 36, p. 199-207, 1985.

CONTE, E. Atividade de fosfatase ácida e formas de acumulação de fosfato em solo no sistema plantio direto. 2001. 65 p. **Dissertação** (Mestrado) – Curso de Ciências, Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

COUTINHO, F.P.; FELIX, W.P.; YANO-MELO, A.M. Solubilization of phosphates in vitro by *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 42, p.85–89, 2012.

CROSS, A. F; SCHLESINGER, W. H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: application to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural Ecosystems. **Geoderma**, Amsterdam, v. 64, n. 3/4, p. 197-214, 1995.

CRUZ, C. V. Efeito residual de fontes de P e adubação fosfatada no crescimento do milho. 2015. 43 f. **Dissertação** (Mestrado) – Curso de Engenharia Agronômica, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu.

DICK, W. A.; TABATABAI, M. A. Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 6, p. 82-85, 1977.

DUARTE, E. R.; SOUZA, L. K.; DUQUE, L. B. T.; MOREIRA, R. M.; RIBEIRO, K. D. **Diferentes níveis de adubação fosfatada e sua influência na fixação de P no solo.** 2017.

EMPRESA BIOMA. **BiomaPhos.** Disponível em:  
<https://www.bioma.ind.br/produto/bioma-phos>.

FREITAS, I. F.; NOVAIS, R. F.; VILLANI, E. M. A.; NOVAIS, S. V. Phosphorus extracted by ion exchange resins and Mehlich-1 from Oxisols (Latosols) treated with different phosphorus rates and sources for varied soil-source contact periods.

**Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, n.3, p. 667-677, 2013.

GRANT, C.A.; FLATEN, D.N.; TOMASIEWICZ, D.J.; SHEPPARD, S.C. A importância do P no desenvolvimento inicial da planta. **POTAFOS**, Piracicaba, 2001, 16 p. Informações Agronômicas.

GULLO, S.D. Histórico e justificativas do uso de fosfato orgânico de Arad e fórmulas NPK ourofós na agricultura. **Addubare**, v. 1, n. 3, p. 7, 2002.

GUPTA, G.; PARIHAR, S. S.; AHIRWAR, N. K.; SNEHI, S. K.; SINGH, V. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. **Journal of Microbial and Biochemical Technology**, v. 7, n. 2, p. 96-102, 2015.

HARGER, N; BRITO, O. R.; RALISCH, R.; ORTIZ, F. R.; WATANABE, T.S. Avaliação de fontes e doses de P no crescimento inicial do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 39-44, 2007.

HARVEY, P.R; WARREN, R.A; WAKELIN, S. Potential to improve root access to phosphorus: the role of non-symbiotic microbial inoculants in the rhizosphere. **Crop and Pasture Science**, Victoria, v. 60, p. 144-151, 2009.

HAVLIN, J. L.; BEATON, J. D.; TISDALE, S. L.; NELSON, W. L. **Soil fertility and fertilizers in introduction to nutrient management.** New Jersey, 499p., 1999.

HEDLEY, M.J.; STEWART, J.W.B.; CHAUHAN, B.S. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 46, p. 970-976, 1982.

HOROWITZ, N.; MEURER, E. J. Eficiência agronômica de fosfatos naturais. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. S. (Eds). **P na agricultura brasileira.** Piracicaba, POTAFOS, p. 665- 682, 2004.

- HU, H. Q.; HE, J. Z. LI, X. Y. LIU, F. Effect of several organic acids on phosphate Adsorption by Variable charges soils of central China. **Environment International**, NewYork, v. 26, n. 5, p. 353-358, 2001.
- IKHAGBE, B.; ANOLIEFO, G. O.; OLISE, O. F.; RACKELMANN, F.; SOMMER, M.; ADEKUNLE, I. J. Major phosphorus in soils is unavailable, yet critical for plant development. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 12, n. 3, p. 500-535, 2020.
- JAKOBSEN, I.; LEGGETT, M.E.; RICHARDSON, A.E. Rhizosphere microorganisms and plant phosphorus uptake. In: SIMS, J.T.; Sharpley, A.N. (Ed.). Phosphorus: agriculture and the environment. **Madison: American Society for Agronomy**, 2005. p. 437–494.
- KÖPPEN, W., GEIGER, R. Klimate der erde. gotha: Verlag justus perthes. Wallmap 150cmx200cm. 1928.
- KUCMANSKY, D. A.; CORBANI, G.; PINTO SALAMONI, S. Avaliação do potencial biotecnológico de microrganismos como promotores de crescimento. **Seminário de Iniciação Científica e Seminário Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 2015.
- LIMA, R. L. S. Phosphorus fertilization on growth and contents of macronutrients in *Jatropha curcas* seedlings. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 950-956, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000400017>.
- LOPEZ, A. S. Fosfatos naturais. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H., **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. Viçosa: Comissão de fertilidade do solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p.65-66.
- MAHDI, S.S. et al. Phosphorus availability issue- its fixation and role of phosphate solubilizing bacteria in phosphate solubilization. **Research Journal of Agricultural Sciences**, New York, v. 2, n. 1, p. 174–179, 2011.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: **POTAFOS**, p. 319, 1997.
- MARTINAZZO, R. et al. P 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.
- MARTINS, M. M. Substâncias húmicas como aditivos para melhorar a eficiência de fosfatos solúveis e reativos. 2019. 70 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de

- Engenharia Agronômica, Solos e Nutrição de Plantas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2019. Cap. 4.
- MATIAS, G. C. S. Eficiência agronômica de fertilizantes fosfatados em solos com diferentes capacidades de adsorção de P e teores de matéria orgânica. 2010. 174 f. **Tese** (Doutorado) – Curso de Ciências, Solos e Nutrição de Plantas, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- MENGEL, K.; KIRBY, E. A. Principles of plant nutrition. Bern: Internation Potash Institute, 687 p., 1987
- MICROSOFT CORPORATION. Microsoft Excel. 2018
- MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.
- NASCIMENTO, B. L. M.; LIMA, I. M. A.; IWATA, B. de F.; AQUINO, B. F. de. Altura e Diâmetro do milho cultivado em função de diferentes doses de fertilizantes fosfatados. **Scientia Plena**, v. 10, n. 9, 2014.
- NUNES, R. S.; SOUSA, D. M. G.; GOEDERT, W. J.; VIVALDI, L. S. Distribuição de P no solo em razão do sistema de cultivo e manejo da adubação fosfatada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, p. 877-888, 2011.
- NOVAIS, R.T.; SMYTH, T.J, **P em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa: UFV, 399 p., 1999.
- PARIKH, S. J. & JAMES, B.R. Soil: the foundation of agriculture. **Nature Education Knowledge**, v. 3, 2012.
- PAVINATO, P.S.; CHERUBIN, M.R.; SOLTANGHEISI, A. Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72302-1>
- PAVINATO, P.S.; MERLIN, A.; ROsolem, C.A. Phosphorus fractions in Brazilian Cerrado soils as affected by tillage. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 105, p. 149-155, 2009.
- RICHARDSON, A. E.; SIMPSON, R. J. Soil Microorganisms Mediating Phosphorus Availability Update on Microbial Phosphorus. **Plant Physiology**, Canberra, v. 156, n. 3, p. 989-996. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.111.175448>

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, New York, v. 17, p. 319–339, 1999.

SANTOS, J. C. P. Rendimento de massa seca e absorção de P pelo milho afetado pela aplicação de P, calcário e inoculação com fungos micorrízicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, n.1, p. 63-67, 1996. <https://doi.org/10.1590/S0103-84781996000100012>.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT software version 9.2**. Cary, 2008.

SHEN, J.; YUAN, L.; ZHANG, J.; LI, H.; BAI, Z.; CHEN, X.; ZHANG, W.; ZHANG, F. Phosphorus dynamics: from soil to plant. **Plant physiology**, Washington, v. 156, p. 997–1005, 2011.

SILVA, S. A. Produção e Biometria de Genótipos de Milho em Função da Adubação Fosfatada. 2019. 31 p. **Monografia** (Bacharel) – Curso de Engenharia Agronômica, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 888 p.

TAK H.; AHMAD F.; BABALOLA O.O.; INAM A. (2012). Growth, photosynthesis and yield of chickpea as influenced by urban wastewater and different levels of phosphorus. International. **Journal of Plant Research**, v.2, p.6-13, 2012. <https://doi.org/10.5923/j.plant.20120202.02>

TIRITAN, C.S.; SANTOS, D.H.; BORDINI, R.A.; FOLONI, J.S.S.; ONISHI, R.Y. Produção de matéria seca de milho em função da adubação fosfatada mineral e organomineral. **Colloquium Agrariae**, Bom Jesus, v. 6, n. 1, p. 1 -7, 2010.

TOKURA, A. M.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N.; FAQUIN, V. KURIHARA, C. H.; ALOVISI, A. A. Forma de P em solo sob plantio direto em razão da profundidade e tempo de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 1467-1476, 2002.

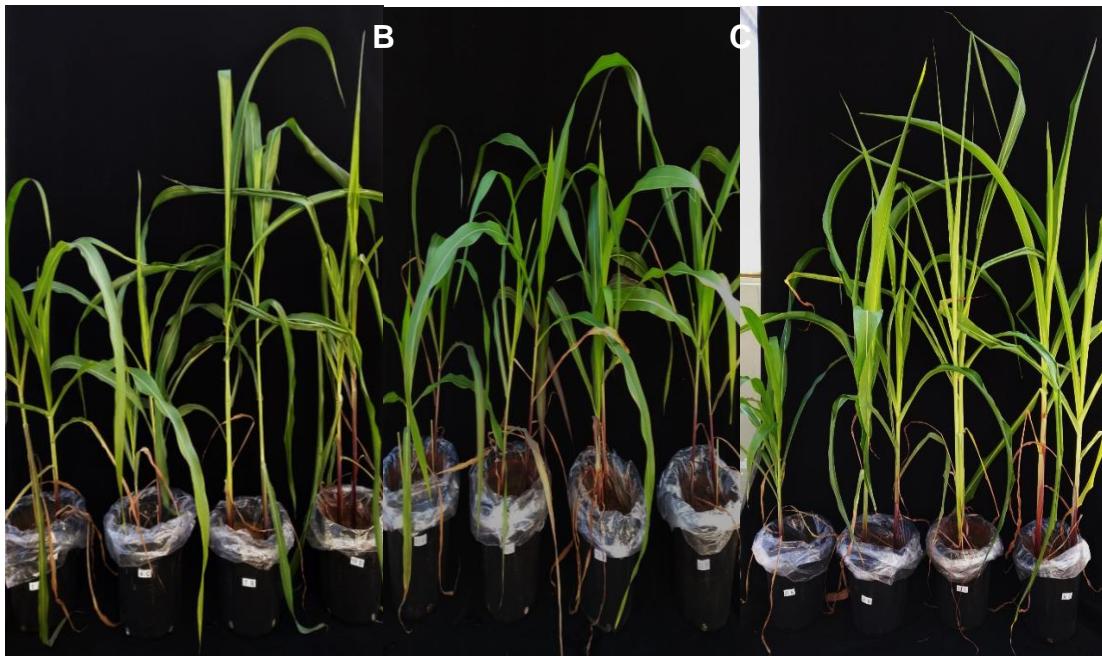
RAIJ, B. Van. **Fertilidade do Solo e Manejo de Nutrientes**. Piracicaba, 2011.

RAIJ, B. VAN.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: IAC, 2001, 285 p.

- RAIJ, B. VAN; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. **Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo.** 2<sup>a</sup>ed. Campinas: IAC, 1997. 285p. (Boletim Técnico, 100).
- RAJAN, S. S. S.; WATKINSON, H.; SINCLAIR, A. G. Phosphate rocks for direct application to soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 57, p. 77-159, 1996.
- RANZANI, G. Subsídios à Geografia de Piracicaba. **Piracicaba: IHGP**, p. 13, 1976.
- ROY, E. D.; RICHARDS, P. D.; MARTINELLI, L. A.; COLETTA, L. Della; LINS, S. R. M.; VAZQUEZ, F. F.; WILLIG, E.; SPERA, S. A.; VANWEY, L. K.; PORDER, S. The phosphorus cost of agricultural intensification in the tropics. **Nature Plants**, v. 2, p.2-7, 2016.
- TATE, K.R. Temporal variations in some plant and soil P pools in two pasture soils of different P fertility status. **Plant Soil**, New York, v. 132, p. 219–232, 1991.
- ZAIDI, A. et al. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, Budapest, v. 56, p. 263– 284, 2009.
- ZHU, J.; LI, M.; WHELAN, M. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. **Science of the Total Environment**, v. 612, p. 522-537, 2018.



## APÊNDICES



**Apêndice 01.** Comparação visual das plantas com diferentes fontes fosfatadas e seguindo as doses crescentes aplicadas de  $P_2O_5$  (0, 50, 100 e 150 mg  $P_2O_5$   $kg^{-1}$  solo): FNR (A); FN Araxá (B); STP (C). Fotos tiradas por Mayara Martins e Martins. Piracicaba – SP.



**Apêndice 02.** Desenvolvimento do experimento ao longo do tempo na casa de vegetação. Fotos tiradas por Mayara Martins e Martins. Piracicaba – SP.