

# AVALIAÇÃO DO MANEJO AGROECOLÓGICO DO FÓSFORO NÃO LÁBIL E SUA INFLUÊNCIA SOBRE OUTROS ATRIBUTOS DO SOLO E NA CULTURA DO MILHO

José Francisco Grillo<sup>1</sup> e Antonio Carlos Saraiva da Costa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Agronomia, Área de Solos, Laranjeiras do Sul, Paraná-PR. E-mail: jose.grillo@uffs.edu.br

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Maringá, Paraná-PR. E-mail: acscosta@uem.br.

## Resumo

Uma importante alternativa para aumentar a disponibilidade do P do solo e reduzir o uso de fosfatos solúveis na agricultura é a seleção de bactérias e plantas que solubilizam formas não lábeis deste elemento nos solos tropicais. Avaliaram-se a eficiência da solubilização do P não lábil para o milho em função da presença/ausência de *Pseudomonas fluorescens*, cultivado sobre diferentes tipos de palhadas de inverno. Os tratamentos foram distribuídos em arranjo fatorial 2 x 5 com delineamento inteiramente casualizado, ou seja, 2 formas de inoculação com *Pseudomonas fluorescens* (com e sem) associadas a 5 tipos de palhadas (sem palhada, ervilhaca, tremoço, crotalária e nabo forrageiro), com 6 repetições, em ambiente controlado. O desenvolvimento/crescimento do milho foi influenciado, em sua maioria, somente pelos tipos de palhada, exceto para comprimento de espiga, produção de grãos secos e teor de P nos grãos, que responderam significativamente à interação dos fatores tipos de palhadas e modos de inoculação. Da mesma forma, a maioria dos atributos químicos do solo também foi influenciada apenas pelos tipos de palhadas, exceto para teor de P-Mehlich1 e fósforo relativo, os quais responderam à interação dos fatores testados, justificando-se a recomendação de palhada de nabo forrageiro no inverno e adoção da inoculação com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho a fim de elevar a disponibilidade de P no solo e para a cultura do milho. A adoção deste manejo de baixo custo proporcionou a recuperação do P não lábil do solo e reduziu a dependência do uso de adubos fosfatados solúveis no cultivo do milho.

Palavras-chave: disponibilidade de P, *Pseudomonas fluorescens* e acidificação rizosférica.

## EVALUATION OF THE AGROECOLOGICAL MANAGEMENT OF NON-LABILE PHOSPHORUS AND ITS INFLUENCE ON OTHER ATTRIBUTES OF SOIL AND CORN CULTURE

### Abstract

An important alternative to increase soil P availability and reduce the use of soluble phosphates in agriculture is the selection of bacteria and plants that solubilize non-labile forms of this element in tropical soils. The efficiency of the non-labile P solubility for corn was evaluated as a function of the presence / absence of *Pseudomonas fluorescens*, grown on different types of winter straw. The treatments were distributed in a completely randomized design in a factorial arrangement 2 x 5, that is to say, 2 forms of inoculation with *Pseudomonas fluorescens* (with and without) associated with 5 types of straw (without straw, vetch, lupine, crotalaria and forage turnip), with 6 replicates, in a controlled environment. The development / growth of maize was influenced mainly by straw types, except for ear length, dry grain yield and P content in the grains, which responded significantly to the interaction between the types of straw and inoculation modes. Likewise, most soil chemical attributes were also influenced only by the types of straw, except for P-Mehlich1 and relative phosphorus content, which responded to the interaction of the factors tested, justifying the recommendation of fodder turnip in winter and inoculation with *Pseudomonas fluorescens* in maize seeds in order to increase soil P availability and maize crop. The adoption of this low

cost management provided the recovery of non-labile soil P and reduced dependence on the use of soluble phosphate fertilizers in maize cultivation.

**Key word:** availability of P, *Pseudomonas fluorescens* and rhizospheric acidification.

## Introdução

Em geral, os teores de fósforo (P) na solução dos solos são baixos em função da baixa solubilidade de seus compostos e a alta capacidade de fixação pelo solo (FORNASIERI FILHO, 2007). Isto proporciona baixa disponibilidade de P às plantas (GOEDERT et al., 1986) exigindo maiores aplicações em áreas de cultivo, mesmo absorvido em pequenas quantidades.

Os microrganismos afetam diretamente a habilidade das plantas em adquirirem P do solo por diferentes mecanismos: (i) incremento da área superficial das raízes pela extensão do sistema radicular ou pela promoção do crescimento de raízes laterais e pêlos radiculares; (ii) deslocamento do equilíbrio de adsorção, o que resulta em transferência de íons fosfato para a solução do solo ou aumento da mobilidade de formas orgânicas de P e (iii) estímulos de processos metabólicos que são eficientes na solubilização e mineralização do P a partir de formas pouco disponíveis de fósforo inorgânico e orgânico. Esses processos incluem a excreção de íons hidrogênio, produção e liberação de ácidos orgânicos, produção de exopolissacarídeos, produção de sideróforos (COSTA et al., 2015) e a produção de enzimas fosfatases que são capazes de hidrolizar o P orgânico (MENDES & JUNIOR, 2003).

Um importante recurso para aumentar a eficiência de utilização dos fosfatos naturais e redução do uso dos fosfatos solúveis é a seleção de bactérias que solubilizam fosfatos inorgânicos insolúveis (MARRA et al., 2012; ESTRADA et al., 2013; OLIVEIRA-LONGATTI et al., 2014). As bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* são consideradas como as principais solubilizadoras de fósforo no solo (BALDANI, OLIVEIRA e URQUIAGA, 2003). Dentre as bactérias solubilizadoras de P podemos destacar a *Pseudomonas fluorescens* como uma rizobactéria promotora de crescimento de plantas (RPCPs), pois possui a capacidade de colonizar as raízes e outros tecidos internos do vegetal, sem causar sintomas de doenças, produzindo hormônios de crescimento como auxinas e giberelinas, que estimulam o crescimento vegetal, principalmente de raízes, atuando na maior absorção de nutrientes e água (QUADROS, 2009). O efeito dessa bactéria sobre o desenvolvimento das plantas é muito amplo e incluem os efeitos benéficos na germinação de sementes, emergência de plântulas e crescimento das plantas (FIGUEIREDO et al., 2010). O uso da *Pseudomonas fluorescens* aparece como uma opção importante na tentativa de reduzir o custo com adubação mineral, e os riscos ambientais causados pela utilização inadequada, excessiva de fertilizantes, favorecendo a produção agrícola através do fornecimento de nutrientes necessários à cultura do milho (OLIVEIRA, 2010).

A disponibilidade do P depende de sua solubilidade, a qual também pode ser influenciada pela atividade das raízes das plantas (MENDES, 2003) através dos seguintes mecanismos: a) mudança de pH rizosférico, b) liberação de ácidos orgânicos, c) agentes quelante e fosfatases e d) modificações morfológicas nas raízes denominadas proteóides (MENDES & JUNIOR, 2003). Oliveira (2010) inoculou sementes de milho com *Pseudomonas fluorescens* e obteve um resultado positivo na relação bactéria-planta. Porém, não foram encontrados estudos relacionados ao consórcio de fabaceas- *Pseudomonas fluorescens*. Coelho et al., (2007) citam que a bactéria *Pseudomonas fluorescens* pode apresentar-se como uma alternativa relevante para o aumento da disponibilidade de nutrientes necessários para as culturas, reduzindo o custo da adubação química, além de reduzir danos ambientais causados pela utilização inadequada, excessiva e até mesmo incipiente de adubos químicos. Porém, há poucos estudos sobre a solubilização de fósforo utilizando-se plantas de cobertura verde (SOUZA, 2006).

Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência do manejo agroecológico sobre a solubilização do P não lábil para a cultura do milho em função da presença e ausência de inoculação de *Pseudomonas fluorescens*, cultivado sobre palhada de diferentes plantas de cobertura verde.

## Material e métodos

O experimento foi implantado em meados de maio/2015 em ambiente controlado, utilizando-se um LATOSSOLO VERMELHO Distroférrico (EMBRAPA, 2006) cujos atributos químico e granulométrico do solo (profundidade de 0-20 cm) foram: pH  $\text{CaCl}_2 = 5,45$ ; Hidrogênio + Alumínio (H+Al) =  $3,97 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ) =  $0,0 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Fósforo (Mehlich 1) =  $2,30 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Fósforo Remanescente (P-Rem) =  $10,27 \text{ mg L}^{-1}$ ; Nível Crítico de P (NiCri-P) =  $8,12 \text{ mg L}^{-1}$ ; Fósforo Relativo (PR) =  $28,32\%$ ; Eficiência Adubação de P (Ef -P) =  $17,12\%$ ; Fósforo Total (Pt) =  $747,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Carbono Orgânico Total (C) =  $15,97 \text{ g dm}^{-3}$ ; Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) =  $3,85 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) =  $1,67 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Potássio ( $\text{K}^+$ ) =  $0,44 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Soma de Bases (SB) =  $5,96 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Capacidade de Troca Catiônica a pH=7 (CTC) =  $9,93 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ; Saturação por Bases (V%) =  $60,02\%$ ; Enxofre (S) =  $3,62 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Boro (B) =  $0,20 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) =  $16,87 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) =  $29,50 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Manganês ( $\text{Mn}^{2+}$ ) =  $71,10 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Zinco ( $\text{Zn}^{2+}$ ) =  $3,06 \text{ mg dm}^{-3}$ ; Argila =  $604 \text{ g kg}^{-1}$ ; Silte =  $135 \text{ g kg}^{-1}$  e Areia =  $261 \text{ g kg}^{-1}$ .

Os tratamentos foram distribuído em esquema fatorial  $2 \times 5$  inteiramente casualizado (DIC), sendo 2 formas de inoculação com *Pseudomonas fluorescens*, sem (SI) e com (CI) inoculação na sementes de milho, associadas a 5 tipos de palhadas, ou seja, sem palhada (SP), palhada de ervilhaca (PE), palhada de tremoço (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de forrageiro (PN), com 6 repetições, totalizando 10 tratamentos e 60 unidades experimentais (vasos em polietileno com capacidade de 21 litros). O cultivo das plantas de cobertura ocorreu no inverno, anteriormente a implantação da cultura do milho no verão. Desta forma, os tratamentos foram: T1: Testemunha- sem palhada e sem inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (SPSI); T2: Sem palhada e com inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (SPCI); T3: Palhada de ervilhaca comum (*Vicia sativa*), sem inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PESI); T4: Palhada de ervilhaca comum com inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PECI); T5: Palhada de tremoço branco (*Lupinus albus*), sem inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PTSI); T6: Palhada de tremoço branco com inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PTCI); T7: Palhada de crotalária (*Crotalária juncea*), sem inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PCSI); T8: Palhada de crotalária com inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PCCI). T9: Palhada de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.), sem inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PNSI) e T10: Palhada de nabo forrageiro, com inoculação de *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PNCI).

A semeadura das plantas de cobertura nos vasos ocorreu em meados de maio/2015 com as seguintes densidades : a) ervilhaca comum –  $50 \text{ kg ha}^{-1}$  (CALEGARI et. al, 1993); b) tremoço branco –  $60 \text{ kg ha}^{-1}$ ; c) crotalária –  $30 \text{ kg ha}^{-1}$  e d) nabo forrageiro –  $15 \text{ kg ha}^{-1}$ . Nesta ocasião, o solo utilizada nao recebeu correção e nem adubação (base ou cobertura), considerando-se as condições adequados de fertilidade do mesmo, com exceção do baixo teor de P a qual era desejável para desenvolvimento do experimento. Após a semeadura, a umidade do solo foi mantida- em torno de 70% de sua capacidade de campo (CC), utilizando-se água destilada/deionizada. No estágio de floração das plantas de cobertura verde, ou seja, aos 83 dias após a semedura (DAS) foi realizado o corte e picagem da fitomassa produzida para a cobertura do solo.

A semeadura do milho foi realizada em meados de setembro/2015 (43 dias após o corte das plantas de cobertura) utilizando-se a variedade Pioneer 30F53YH. De acordo com os

tratamentos propostos, as sementes de milho foram inoculadas à sombra momentos antes da semeadura com *Pseudomonas fluorescens*, utilizando-se o produto comercial Accelerate® com a estirpe 1008 e concentração de  $1 \times 10^7$  bactérias  $\text{ml}^{-1}$  na dosagem de 0,125 L / 25 kg de sementes (ZUCARELI *et al.*, 2011). Foram semeadas 5 sementes viáveis  $\text{vaso}^{-1}$  e o debate realizado aos 9 DAS, deixando-se 2 plantas uniformes  $\text{vaso}^{-1}$ . Após a semeadura a umidade do solo foi mantida em torno de 70% da CC, utilizando-se água destilada/deionizada.

A adubação de base do milho foi feita com base na análise química de solo (IAPAR, 2003), 10 DAS do milho em sulco ao lado das plantas, subtraindo-se a adição de P por razão do objetivo do experimento. Desta forma, na adubação de base foram utilizados 40 kg  $\text{ha}^{-1}$  de N, 40 kg  $\text{ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$  e 20 kg  $\text{ha}^{-1}$  de S através das fontes uréia (45% de N), sulfato de amônio (21% de N e 24% de S) e cloreto de potássio (60% de  $\text{K}_2\text{O}$ ). Na adubação nitrogenada em cobertura foi utilizado 120 kg  $\text{ha}^{-1}$  de N na forma uréia (45% de N), parcelada em 2 aplicações (60 kg  $\text{ha}^{-1}$  de N no estádio V5/V6 + 60 kg  $\text{ha}^{-1}$  de N no estádio V8/V9).

No florescimento (75 DAS) foram coletadas aleatoriamente 6 plantas de milho (3 repetições)  $\text{tratamento}^{-1}$  para a determinação de área foliar total (AFT), diâmetro de colmo (DC), altura de plantas (AP), massa seca foliar (MSF), massa seca da folha bandeira da espiga (MSFE), massa seca de colmo (MSC), massa seca de foliar + colmo (MSF + MSC). O material vegetal (folhas e colmos) foi seco em estufa com ventilação forçada a 65° C até peso constante. A MSFE foi moída em moinho tipo Willey para a determinação do fósforo foliar (PF) (EMBRAPA, 2009). Após esta etapa o experimento ficou com 3 repetições  $\text{tratamento}^{-1}$ .

Por ocasião da coleta das plantas de milho (75 DAS), também foram coletadas amostras compostas (A e B) de solo  $\text{vaso}^{-1}$  (profundidade 0-20 cm), sendo (i) amostras A - para fins de análise química final do solo, as quais foram previamente secadas em estufa de ventilação forçada à 40° C por 48 horas, moídas em moinho de martelo e tamisadas em peneira com malha de 2 mm (EMBRAPA, 2009), onde foram determinados pH  $\text{H}_2\text{O}$ , pH  $\text{CaCl}_2$ , pH KCl, , pH PCZ, H+Al,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , C org, fósforo em Mehlich 1 (P-Mehlich 1), fósforo remanescente (P-Rem) (ALVAREZ *et al.*, 2001), fósforo total (Pt), nível crítico de fósforo (NiCri-P), fósforo relativo (PR), eficiência da adubação fosfatada (Ef-P), soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC, a pH 7,0), saturação por bases (V%), ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ), cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ), manganês ( $\text{Mn}^{2+}$ ) e zinco ( $\text{Zn}^{2+}$ ); e (ii) amostras B - congelada a -18 °C para a determinação da atividade da fosfatase (P-ASE) (TABATABAI & BREMNER, 1969). Segundo Saadi *et al.* (2000), o PR pode ser calculado pela expressão  $\text{PR} (\%) = 100 \times \text{P} / \text{NiCri-P}$ , onde P representa o teor de P-Mehlich 1 do solo e o NiCri-P representa o nível crítico de P no solo o qual é calculado através da expressão  $\text{NiCri-P} = 4,62 + 0,324731 \cdot (\text{P-Rem}) + 0,00160568 \cdot (\text{P-Rem})^2$ , em  $\text{mg L}^{-1}$ .

Aos 133 DAS foi realizada a colheita das espigas (3 repetições com 2 plantas  $\text{vaso}^{-1}$ ) para a determinação do comprimento da espiga (CE), diâmetro da espiga (DE), peso de mil de grãos (PMG), produção de grãos secos (PGS). Os grãos foram secos em estufa com ventilação forçada (a 65° C até peso constante), moídos em moinho tipo Willey e encaminhados para a determinação do teor de fósforo nos grãos de milho (P-GR) (EMBRAPA, 2009).

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o software Assistat (SILVA & AZEVEDO, 2009).

## Resultados e discussão

### *Cultura do milho*

O DE não foi influenciado significativamente pelos fatores testados. Por outro lado, AFT, AP, DC, MSF, MSC, MSF+MSC, MSFE e PMG, apresentaram diferenças significativas apenas para o fator tipos de palhadas.

Na Tabela 01, a palhada de nabo forrageiro (PN) proporcionou o maior valor de AFT

(10.591,00 cm<sup>2</sup> planta<sup>-1</sup>) do milho e diferiu significativamente dos demais tratamentos. Para a AP do milho, os tipos de palhadas não influenciaram significativamente, exceto no tratamento SP que apresentou os menores valores de AP (216,75 cm), AFT (6.764,49 cm<sup>2</sup> planta<sup>-1</sup>) e DC (1,72 cm). Por outro lado, o DC apresentou as maiores médias nos tratamentos com PN (1,98 cm) e PC (1,91 cm), diferindo dos demais.

**Tabela 01.** Valores médios de área foliar total (AFT), altura de plantas (AP) e diâmetro de colmo (DC) das plantas de milho (75 DAS) em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN).

Tratam. Palhada	AFT		AP		DC	
	----(cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )----		----- ( cm )-----			
SP	6.764,49	d	216,75	b	1,72	c
PE	7.936,73	c	237,00	a	1,83	b
PT	9.442,92	b	240,83	a	1,86	b
PC	9.173,99	b	240,33	a	1,91	a
PN	10.591,00	a	244,33	a	1,98	a
<b>C.V.(%)</b>	7,73		3,94		4,80	

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Na Tabela 02, o tratamento PN proporcionou as maiores médias de MSF (71,69 g vaso<sup>-1</sup>), MSC (198,88 g vaso<sup>-1</sup>), MSC + MSF (270,57 g vaso<sup>-1</sup>) e MSFE (12,17 g vaso<sup>-1</sup>) do milho, diferindo dos demais tratamentos. Os menores resultados para as mesmas variáveis foram observados no tratamento SP, com exceção de MSC e MSC+MSF onde os tratamentos SP e PE não diferiram entre si. Estes resultados não corroboraram com os de Cardoso et al. (2008) onde, avaliando o efeito da inoculação de rizobactérias do gênero *Pseudomonas* e *Azospirillum* e sobre o crescimento e desenvolvimento do milho precoce cultivado em casa de vegetação, constataram efeito positivo da inoculação sobre altura de plantas, área foliar, matéria seca de raízes/parte aérea e distância entre internódios.

**Tabela 02.** Valores médios de massa seca foliar (MSF), massa seca de colmo (MSC), massa seca foliar + colmo (MSF +MSC), massa seca da folha bandeira da espiga (MSFE) das plantas de milho (75 DAS) em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN).

Tratam. Palhada	MSF		MSC		MSF + MSC		MSFE	
	----- ( g vaso <sup>-1</sup> )-----							
SP	51,77	d	85,55	c	137,32	c	9,45	d
PE	56,49	c	104,31	c	160,80	c	10,14	c
PT	62,91	b	138,86	b	201,78	b	11,05	b
PC	64,08	b	140,69	b	204,78	b	10,81	b
PN	71,69	a	198,88	a	270,57	A	12,17	a
<b>C.V.(%)</b>	4,67		22,87		16,17		4,28	

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Na Tabela 03, ao contrário das variáveis anteriores, o tratamento SP proporcionou o maior valor de PMG (347,21 g vaso<sup>-1</sup>) de milho, sendo inversamente proporcional a AFT, AP, DC, MSF, MSC, MSF+MSC e MSFE (Tabelas 01 e 02). O menor valor de PMG foi obtido no tratamento PN (236,73 g vaso<sup>-1</sup>), denotando efeito diluição em função da maior produção de fitomassa (MSF, MSC, MSF+MSC e MSFE) proporcionado por este tratamento (PN).

**Tabela 03.** Valores médios de peso de mil grãos (PMG) das espigas de milho (133 DAS) em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN).

Tratamentos Palhada	PMG (g vaso <sup>-1</sup> )	
SP	347,21	a
PE	305,12	b
PT	299,86	b
PC	284,08	b
PN	236,73	c
C.V. (%)	12,98	

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Para o CE (Tabela 04), houve interação entre modos de inoculação (SI e CI) e tipos de palhadas (SP, PE, PT, PC e PN). Nos tratamentos SI, observou-se que não houve diferenças significativas entre tipos de palhadas, exceto para o tratamento PCSI que apresentou o menor valor (10,28 cm) de CE, diferindo dos demais. Por outro lado, nos tratamentos CI, constatou-se que o tratamento SPCI proporcionou o melhor resultado para CE (15,60 cm), diferindo significativamente dos demais.

**Tabela 04.** Valores médios de comprimento das espigas (CE) de milho (133 DAS) em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN), combinados sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos Palhada	SI		CI	
	CE (cm)			
SP	13,06	aB	15,60	aA
PE	12,91	aA	13,50	bA
PT	12,93	aA	11,43	cB
PC	10,28	bB	11,68	cA
PN	12,75	aA	12,68	bA
C.V. (%)	5,72			

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Comparando-se a interação entre os dois fatores testados, o tratamento SPCI (15,60 cm) foi superior e diferiu do SPSI (13,06 cm). Os resultados obtidos indicam que houve um estímulo proporcionado pela inoculação da *Pseudomonas fluorescens* (CI) sobre o CE (Tabela 04), considerando-se sua capacidade em promover o crescimento vegetal, habilidade em

melhorar a nutrição fosfatada das plantas pela solubilização de fosfato inorgânico (AFZAL & BANO, 2008) e promover o crescimento do sistema radicular, que facilita a absorção de água e nutrientes (OLIVEIRA et al., 2015).

Para a PGS (Tabela 05), também houve interação entre modos de inoculação e tipos de palhada. Para os tratamentos SI, os maiores valores foram observados para PCSI (115,03 g vaso<sup>-1</sup>) e PNSI (127,11 g vaso<sup>-1</sup>), não diferindo entre si e sim dos demais tratamentos. Por outro lado, nos tratamentos CI os maiores valores de PGS foram verificados para os tratamentos PTCI (120,38 g), PCCI (126,34 g vaso<sup>-1</sup>) e PNCI (140,66 g vaso<sup>-1</sup>), diferindo dos demais.

A interação significativa entre os fatores testados é evidenciada nos tratamentos com palhada de ervilhaca (PESI/PECI) e tremoço (PTSI/PTCI), onde os tratamentos PECI e PTCI forma superiores e revelaram um efeito benéfico da inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho sobre a PGS. Como esperado, os menores valores foram observados nos tratamentos SPSI (54,37 g vaso<sup>-1</sup>) e SPCI (37,84 g vaso<sup>-1</sup>), porém SPSI não diferiu do PESI (38,6733 g vaso<sup>-1</sup>) indicando que em áreas sem palhada de inverno o uso da inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho não foi viável economicamente. Estes resultados não corroboram com os obtidos por Kloepper et al. (1988) que comprovaram incrementos na produtividade das culturas devido ao aumento da disponibilidade de P às plantas, através da inoculação de *Pseudomonas fluorescens*. A produtividade da cultura do milho está relacionada com a participação do P no crescimento de folhas e raízes, influenciando na capacidade de absorção de elementos essenciais para a cultura (OLIVEIRA et al., 2012).

**Tabela 05.** Valores médios de produção de grãos secos (PGS) das espigas de milho (133 DAS) em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalaria (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN), combinados sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos	SI		CI	
	PGS ( g vaso <sup>-1</sup> )			
<b>Palhada</b>				
<b>SP</b>	54,37	cA	37,84	cA
<b>PE</b>	38,67	cB	84,95	bA
<b>PT</b>	93,03	bB	120,38	aA
<b>PC</b>	115,03	aA	126,34	aA
<b>PN</b>	127,11	aA	140,66	aA

C.V. (%) = 7,75

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

No caso do PF (Tabela 06), não houve interação entre os fatores testados, onde a palhada de tremoço (PT) proporcionou maior concentração de PF no milho (1,48 g de P kg<sup>-1</sup> MS), evidenciando ter maior eficiência na solubilização de P não lábil do solo em relação às demais palhadas, através dos resultados obtidos na PGS (Tabela 05). Por outro lado, a menor concentração de PF (1,03 g de P kg<sup>-1</sup> MS) do tratamento SP comprova a importância de plantas solubilizadoras de P no sistema de rotação de culturas.

Isoladamente, nos modos de inoculação (SI e CI), constatou-se que os tratamentos CI foram significativamente superiores para PF em relação aos tratamentos SI, independente do tipo de palhada utilizada (SP, PE, PT, PC e PN). Estes resultados confirmam a ação da *Pseudomonas fluorescens* na solubilização e disponibilidade de P do solo para as plantas

(AFZAL & BANO, 2008; OLIVEIRA et al., 2015), não corroborando com os resultados obtidos por Cardoso et al. (2008).

**Tabela 06.** Teores médios de fósforo foliar (PF) das amostras foliares coletadas aos 75 DAS do milho, em função dos tratamentos: a) sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN) e b) sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos	PF (g de P kg <sup>-1</sup> MS)	
SP	1,03	d
PE	1,19	c
PT	1,48	a
PC	1,38	b
PN	1,38	b
<b>Inoculação</b>		
SI	1,26	b
CI	1,32	a
<b>C.V. (%)</b>	5,03	

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Igualmente a PGS, o teor de fósforo nos grãos de milho (P-GR) (Tabela 07) sofreu interação entre modos de inoculação e tipos de palhadas.

**Tabela 07.** Teores médios de fósforo nos grãos (P-GR) colhidos aos 133 DAS do milho em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN), combinados sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos	SI		CI	
	P-GR (g de P kg <sup>-1</sup> de grãos)			
SP	1,67	aA	1,41	bB
PE	1,75	aA	1,39	bB
PT	1,47	bA	1,31	bA
PC	1,25	cA	1,21	bA
PN	1,28	cB	1,59	aA
<b>C.V. (%) = 7,78</b>				

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Nos tratamentos SI (Tabela 07), os maiores teores foram observados para os tratamentos SPSI (1,67 g de P kg<sup>-1</sup> de grãos) e PESI (1,75 g de P kg<sup>-1</sup> de grãos), os quais podem ser explicados pelo efeito concentração oriundos da menor produção de fitomassa de MSF, MSC e MSC+MSF (Tabela 03) nestes tratamentos (SPSI e PESI). Outro fator a ser considerado é que os tratamentos SPSI e PESI, foram os que apresentaram menores valores de

PGS (Tabela 05), ou seja, a redução da PGS proporcionou um efeito de concentração nos teores de P-GR nos mesmos. Por outro lado, considerando os tratamentos CI, foi constatado o efeito significativo da inoculação da *Pseudomonas fluorescens* no milho associada à palhada de nabo forrageiro, ou seja, o maior teor de P-GR foi observado no tratamento PNCI (1,59 g de P kg<sup>-1</sup> de grãos), diferindo dos demais e confirmando a solubilização do P não lábil no solo neste tratamento. A interação entre modos de inoculação e tipos de palhada fica evidente, pois o PNCI (1,59 g de P kg<sup>-1</sup> de grão) foi superior e diferiu do PNSI (1,28 g de P kg<sup>-1</sup> de grãos), demonstrando a importância da *Pseudomonas fluorescens* na produção e a qualidade nutricional dos grãos (OLIVEIRA, 2010).

#### Atributos químicos dos solos coletados (Amostras A)

O pH PCZ, Al<sup>3+</sup>, H+Al, SB, V% e Cu<sup>2+</sup> não foram influenciados significativamente pelos fatores testados. Por outro lado, as variáveis pH H<sub>2</sub>O, pH CaCl<sub>2</sub>, pH KCl (Tabela 08) foram influenciadas significativamente somente pelos tipos de palhadas. O pH H<sub>2</sub>O do solo do tratamento PN apresentou o maior valor (5,99) e diferiu dos demais tratamentos, corroboram com os obtidos por Amaral et al. (2004) onde alegaram que a causa da elevação do pH pelos resíduos vegetais é a reação de troca entre H e Al do solo pelos cátions Ca, Mg e K presentes nos resíduos de nabo forrageiro (HOYT & TURNER, 1975). Já para as variáveis pH CaCl<sub>2</sub> e pH KCl, os maiores valores foram observados nos solos dos tratamentos PC (5,36 e 4,96, respectivamente) e PN (5,37 e 4,98, respectivamente), os quais proporcionaram menor acidificação do solo, mesmo apresentando as maiores produções de MSF, MSC, MSF+MSC e MSFE (Tabela 02) e PGS (Tabela 05). Porém, correlações negativas significativas entre pH e P solúvel não foram encontradas por alguns autores (NAHAS, 1996; CHAIHARN & LUMYONG, 2009; JHA et al., 2009), evidenciando assim, que pode ocorrer solubilização de P sem, necessariamente, haver redução de pH. Illmer & Schinner (1992), avaliando a solubilização de Ca<sub>5</sub>OH(PO<sub>4</sub>)<sup>3</sup> por *Pseudomonas* sp. e *Penicillium aurantiogriseum*, observaram que houve solubilização sem necessariamente haver produção de ácidos orgânicos.

**Tabela 08.** Valores médios de pH em H<sub>2</sub>O, pH em CaCl<sub>2</sub> e pH em KCl dos solos coletados aos 75 DAS do milho em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN).

Tratam.	pH H <sub>2</sub> O		pH CaCl <sub>2</sub>		pH KCl	
SP	5,70	b	5,12	b	4,75	B
PE	5,50	b	5,05	b	4,67	B
PT	5,72	b	5,20	b	4,81	B
PC	5,75	b	5,36	a	4,96	A
PN	5,99	a	5,37	a	4,98	A
C.V.(%)	3,36		2,20		2,40	

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Para as variáveis Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> e CTC (Tabela 09), somente o fator tipos de palhadas (SP, PE, PT, PC e PN) proporcionou variações significativas em seus teores. Os teores de Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> dos solos dos tratamentos não diferiram entre si, com exceção do tratamento SP que foi o menor teor e diferiu dos demais. Provavelmente este resultado tenha relação com os menores valores de AFT, AP, DC, MSF e MSFE (Tabelas 01 e 02) obtidos no tratamento SP,

justificado pelo seu elevado teor  $K^+$  ( $0,6132 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ) (Tabela 09) o qual pode ter causado a redução da absorção de  $Mg^{2+}$  pelas plantas. Os maiores teores de  $K^+$  dos solos dos tratamentos SP, PE e PT não diferiram entre si, porém diferiram dos tratamentos PC e PN que apresentaram os menores teores, ou seja, a maior produção de MSF, MSC, MSF+MSC e MSFE (Tabela 02) e PGS (Tabela 06), pode ter sido responsável por uma maior extração deste nutriente pela cultura do milho. Para os valores da CTC (Tabela 09), os resultados obtidos nos solos dos tratamentos PE ( $9,6971 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ) e PT ( $9,8921 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ) foram superiores e diferiram dos demais tratamentos. Este resultado pode ser justificado pelos elevados teores de  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  e  $K^+$  verificados nestes tratamentos, os quais influenciaram de forma indireta no cálculo da CTC, pois os teores de  $H^+ + Al^{3+}$  dos solos coletados não apresentaram variações significativas em função dos fatores testados. Amaral et al. (2004) constataram que os aumentos de Ca e Mg trocáveis e de potássio disponível (Mehlich-1) nos solos estavam relacionados com o teor desses cátions nos materiais aplicados, onde o nabo forrageiro apresentou o maior conteúdo entre os resíduos, proporcionando maior valor de cálcio na camada de 15 a 20 cm em função de seu maior conteúdo de ácidos cítrico e málico o que possibilitou o transporte desse cátion por um desses ligantes, embora esse efeito não tenha sido significativo ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 09.** Teores médios de  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  e CTC nos solos coletados aos 75 DAS do milho em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN).

Tratam.	$Ca^{2+}$		$Mg^{2+}$		$K^+$		CTC	
	----- ( $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ )-----							
SP	1,4282	b	0,6071	b	0,6132	a	8,7298	B
PE	1,8116	a	0,8072	a	0,5882	a	9,6971	A
PT	2,2384	a	0,9589	a	0,5072	a	9,8921	A
PC	1,9635	a	0,8610	a	0,4092	b	9,0362	B
PN	1,8821	a	0,9156	a	0,2941	b	9,1967	B
<b>C.V.(%)</b>	16,67		16,83		22,30		4,22	

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Diferentemente das variáveis anteriores dos solos, os teores de carbono orgânico (C org) apresentaram interação significativa com os fatores testados (Tabela 10). Nos tratamentos SI, o maior teor foi encontrado no solo do tratamento PNSI ( $17,12 \text{ g dm}^{-3}$ ), o qual diferiu dos demais. Este resultado expressa o grande potencial que a palhada do nabo forrageiro tem em elevar o teor de matéria orgânica no solo, quando comparada com os demais tipos de palhadas testados. Ao compararem-se os tratamentos CI, não houve diferença significativa para os teores de C org dos solos dos diferentes tratamentos testados. Desta forma, a inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho proporcionou uma maior uniformidade nos teores de C org nos solos dos tratamentos CI, através de uma maior produção de ácidos orgânicos (HALDER & CHAKRABARTY, 1993; LIN et al., 2006) estimulado pela presença desta bactéria no milho.

Na interação entre tratamentos SI e CI, pode-se constatar que os tratamentos não diferiram entre si, exceto os tratamentos PNSI e PNCI, onde o os valores de C org do solo do tratamento PNSI foi superior e diferiu do PNCI. Neste caso, possivelmente a inoculação da *Pseudomonas fluorescens* no milho (CI) associado à palhada de nabo forrageiro (PN) tenha

proporcionado uma maior taxa de mineralização do C org. Vale lembrar que houve redução de 2,21% no teor de C org do solo de PNCI (Tabela 10), quando comparado com o teor inicial de C total (15,97 g dm<sup>-3</sup>), enquanto que no solo do tratamento PNSI houve um incremento de 7,20% (Tabela 10).

**Tabela 10.** Teores médios de carbono orgânico (C org) nos solos coletados aos 75 DAS do milho em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN), combinados sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos	SI		CI	
	C org (g dm <sup>-3</sup> )			
SP	14,9492	bA	14,8817	aA
PE	15,2175	bA	15,4908	aA
PT	15,2808	bA	15,6325	aA
PC	15,8308	bA	15,6367	aA
PN	17,1200	aA	15,6175	aB

C.V. (%) = 2,63

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Os teores de P-Mehlich 1 (Tabela 11) dos solos coletados também foram influenciados pela interação dos fatores testados. Nos tratamentos SI, o solo do tratamento PNSI apresentou o maior teor de P-Mehlich 1 (1,97 mg dm<sup>-3</sup>) e diferiu dos demais. Este resultado pode estar relacionado com o maior teor de C org (Tabela 10) deste tratamento. Estes resultados corroboram com os obtidos por Carvalho (2008) o qual destaca que a disponibilidade de fósforo está diretamente relacionada ao ciclo de carbono, e em sistemas de cultivo com uso de plantas de cobertura em rotação, sucessão ou consórcio, onde não há revolvimento do solo, essa disponibilidade é ainda mais significativa. Por outro lado, nos tratamentos CI foi observado que no solo do tratamento PNCI apresentou o maior teor de P-Mehlich 1 (2,82 mg dm<sup>-3</sup>), diferindo dos demais tratamentos testados.

Comparando-se a interação entre os tratamentos SI e CI que apresentaram os maiores teores de P-Mehlich 1, observou-se que o teor do solo do PNCI (2,82 mg dm<sup>-3</sup>) foi superior e diferiu do PNSI (1,97 mg dm<sup>-3</sup>). Estes resultados comprovam o efeito sinérgico e eficiente da associação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* (CI) nas sementes de milho cultivado sobre a palhada do nabo forrageiro (PN), no processo de solubilização de formas menos lábeis de P do solo. Isto deve-se aos maiores conteúdos de ácidos cítrico e málico que o nabo forrageiro apresenta (AMARAL et al., 2004) e pela excreção dos ácidos orgânicos (láticos, glicólico, cítrico, málico, oxálico, succínico e tartárico entre outros) pelos micro-organismos e seus prótons associados, que acompanham o ânion fosfato, envolvidos nos processos de solubilização do P (RICHARDSON, 1994). Alguns autores estudando a influência de ácidos orgânicos na solubilização de fósforo ligados a óxidos de ferro, verificaram que os ácidos cítrico e málico foram os mais eficazes (JOHNSON & LOEPPERT, 2006; MARRA, 2009).

Vale lembrar que o teor final de P-Mehlich 1 de 2,82 mg dm<sup>-3</sup> (Tabela 11) no solo do tratamento PNCI foi superior ao teor inicial de P (2,30 mg dm<sup>-3</sup>), representando um incremento de 22,61%, mesmo após o processo de extração de P pela cultura do milho (75 DAS). Todos os demais tratamentos testados apresentaram teores de P-Mehlich 1 no solo abaixo do teor inicial (abaixo de 2,30 mg dm<sup>-3</sup>). Estes resultados comprovam a liberação de formas menos lábeis de P para formas mais lábeis pelo palhada de nabo forrageiro associada à

inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho (PNCI), justificando o maior teor de P-GR (Tabela 07) obtido no mesmo.

**Tabela 11.** Teores médios de fósforo em Mehlich-1 (P- Mehlich 1) nos solos coletados aos 75 DAS do milho, em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN), combinados sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos	SI		CI	
	P- Mehlich 1 (mg dm <sup>-3</sup> )			
SP	1,56	bA	1,37	dA
PE	1,30	cA	1,51	dA
PT	1,61	bA	1,71	cA
PC	1,66	bB	2,01	bA
PN	1,97	aB	2,82	aA

C.V. (%) = 7,83

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

O fósforo relativo (PR) na Tabela 12 teve o mesmo comportamento do P-Mehlich 1 (Tabela 11), sendo observada a interação entre modos de inoculação e tipos de palhada. Nos tratamentos SI, a porcentagem de PR (%) do solo do tratamento PNSI (25,60%) foi superior e diferiu dos demais tratamentos, destacando-se assim a eficiência da palhada do nabo em aumentar a disponibilidade de P-Mehlich 1, e assim PR (%) (SAADI et al., 2000). Nos tratamentos CI o maior valor de PR do solo de PNCI (36,76 %), diferiu dos demais. Esta elevação pode ser atribuída ao aumento dos teores de P-Mehlich 1 (Tabela 11) no solo do PNCI. Desta forma, este tratamento proporcionou um incremento de 28,06% sobre o PR (%) inicial do solo, que era de 28,32%, podendo ser atribuído à solubilização biótica de P (inorgânico e orgânico) das frações moderadamente lábil e não lábil do solo. Considerando-se interação entre os tratamentos SI e CI, observou-se que o resultado obtido no tratamento PNCI (36,26 %) diferiu do PNSI (26,60 %).

**Tabela 12.** Teores médios de fósforo relativo (PR) nos solos coletados aos 75 DAS do milho, em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN), combinados sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos	SI		CI	
	PR (%)			
SP	20,76	bA	19,40	cA
PE	17,59	bA	19,82	cA
PT	19,45	bB	22,78	bA
PC	20,67	bB	24,17	bA
PN	25,60	aB	36,26	aA

C.V. (%) = 7,75

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Os teores de P-Rem, NiCri-P, Pt e Ef-P (Tabela 13) foram influenciadas apenas pelos tipos de palhada, onde os tratamentos PT, PC e PN proporcionaram os maiores teores para estas variáveis, exceto para o fósforo total (Pt) onde apenas PC e PN proporcionou os maiores teores no solo e diferiram dos demais. Este aumento nos teores de P-Rem dos tratamentos PT, PC e PN, indica uma redução na capacidade de adsorção de fosfato pelas cargas positivas dos colóides do solo, provavelmente devido a maior produção de ácidos orgânicos liberados durante a mineralização das palhadas destes tratamentos. A dissociação dos íons de H<sup>+</sup> que geralmente ocorrem nos ácidos orgânicos do solo, gera radicais com cargas negativas que irão atuar como agentes quelantes dos metais acompanhante do íon fosfato (Ca, Al e Fe) (LIN et al., 2006) ou serem adsorvidos pelos mesmos sítios de adsorção dos fosfatos, reduzindo assim sua adsorção e, conseqüentemente, aumentando os teores de P-Rem no solo. Segundo Souza et al. (2006), o solo pode sorver ácidos orgânicos com grande energia, competindo com sítios de adsorção de fósforo e aumentando a disponibilidade desse nutriente para as plantas.

**Tabela 13.** Teores médios de fósforo remanescente (P-Rem), nível crítico de fósforo (NiCri-P), fósforo total (Pt) e eficiência da adubação fosfatada (Ef-P) dos solos coletados aos 75 DAS do milho em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN).

Tratam.	P-Rem		NiCri-P		P total (Pt)		Ef-P	
	----- (mg L <sup>-1</sup> ) -----							
SP	8,01	b	7,32	b	672,69	c	13,35	b
PE	8,61	b	7,53	b	686,20	c	14,36	b
PT	9,61	a	7,89	a	710,40	b	16,01	a
PC	10,48	a	8,20	a	742,05	a	17,48	a
PN	9,22	a	7,75	a	763,07	a	15,36	a
<b>C.V.(%)</b>	10,76		4,51		3,01		10,76	

Os teores de Fe<sup>2+</sup> e Mn<sup>2+</sup> (Tabela 14) dos solos foram influenciados significativamente apenas pelos tipos de palhadas. Os teores satisfatórios destes micronutrientes no solo no início do período experimental pode ter proporcionado resultados não significativos para o fator modos de inoculação, haja vista que as bactérias *Pseudomonas fluorescense* são conhecidas pela sua capacidade de produzir compostos de baixo peso molecular (sideróforos) quelantes de Fe<sup>2+</sup>, somente quando este é limitado (NEILANDS, 1981; COELHO et al., 2007), o que não ocorreu neste experimento. No caso do Fe<sup>2+</sup>, os maiores teores foram observados nos tratamentos SP (235,53 mg dm<sup>-3</sup>), PT (243,32 mg dm<sup>-3</sup>) e PN (233,11 mg dm<sup>-3</sup>), diferindo dos demais tratamentos testados (Tabela 14). Por outro lado, os maiores teores de Mn<sup>2+</sup> foram encontrados nos solos dos tratamentos PT (220,37 mg dm<sup>-3</sup>), PC (209,84 mg dm<sup>-3</sup>) e PN (217,90 mg dm<sup>-3</sup>), diferindo dos demais (Tabela 14). A eficiente ciclagem do Mn<sup>2+</sup> pelo cultivo das plantas de cobertura verde tais como tremoço, crotalária e nabo forrageiro fica ainda mais evidenciada ao considerar que o teor inicial de Mn<sup>2+</sup> no solo era de 71,10 mg dm<sup>-3</sup>, denotando que os teores obtidos nos solos dos tratamentos PT, PC e PN não foram dependentes dos valores de pH CaCl<sub>2</sub> (Tabela 08) e sim resultantes da atividade da fosfatase ácida (P-ASE) (Tabela 16), principalmente nos tratamentos PT, PC e PN.

**Tabela 14.** Teores médios de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$  nos solos coletados aos 75 DAS do milho em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN).

Tratam.	$\text{Fe}^{2+}$		$\text{Mn}^{2+}$	
	-----( $\text{mg dm}^{-3}$ )-----			
SP	235,53	a	182,65	c
PE	224,91	b	198,16	b
PT	243,32	a	220,37	a
PC	213,11	b	209,84	a
PN	233,11	a	217,90	a
C.V. (%)	5,52		6,07	

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Na Tabela 15 os teores de  $\text{Zn}^{2+}$  foram influenciados pela interação dos fatores testados. Nos tratamentos SI, o solo do PNSI apresentou o maior teor de  $\text{Zn}^{2+}$  ( $27,88 \text{ mg dm}^{-3}$ ) diferindo significativamente dos demais, onde existiu um incremento de 49,89 % no teor de  $\text{Zn}^{2+}$  quando comparados os resultados obtidos no PESI ( $18,60 \text{ mg dm}^{-3}$ ). Para os tratamentos CI, o maior teor de  $\text{Zn}^{2+}$  foi verificado no solo do tratamento PNCI ( $27,28 \text{ mg dm}^{-3}$ ), diferindo do demais tratamentos e apresentando um aumento de 48,66% no teor de  $\text{Zn}^{2+}$  quando comparado com o tratamento SPCI ( $18,35 \text{ mg dm}^{-3}$ ) (Tabela 15). Ao comparar a interação entre os tratamentos SI e CI, observou-se que, para os maiores teores de  $\text{Zn}^{2+}$ , não houve diferença significativa entre os tratamentos PNSI ( $27,88 \text{ mg dm}^{-3}$ ) e PNCI ( $27,28 \text{ mg dm}^{-3}$ ), indicando que os resultados obtidos nestes tratamentos foram mais influenciados pela palhada de nabo forrageiro do que pela inoculação da bactéria *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho. Desta forma, os resultados acima podem ser atribuídos a presença de ácidos cítrico e málico na palhada do nabo forrageiro (FRANCHINI et al., 2001), atuando na liberação deste micronutriente adsorvido aos fosfatos ou em complexos de esfera interna em um grupo funcional de superfície de um óxido de ferro.

**Tabela 15.** Teor médio de zinco ( $\text{Zn}^{2+}$ ) nos solos coletados aos 75 DAS do milho, em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalária (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN), combinados sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos	SI		CI	
	$\text{Zn}^{2+}$ ( $\text{mg dm}^{-3}$ )			
SP	22,00	bA	18,35	dB
PE	18,60	dA	20,58	cA
PT	20,73	cA	20,21	cA
PC	23,31	bA	24,83	bA
PN	27,88	aA	27,28	aA
C.V. (%)	= 5,21			

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Atividade da fostase ácida no solo (Amostras B)

A atividade da fosfatase ácida (P-ASE), expressa em p-nitrofenol produzido por hora por grama de solo ( $\mu\text{g PNFh}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo), sofreu interação dos fatores testados (Tabela 16). Nos tratamentos SI, a P-ASE apresentou os maiores valores nos tratamentos SPSI, PCSI e PNSI, ou seja, 196,63, 208,28 e 218,98 ( $\mu\text{g PNFh}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo) respectivamente, diferindo dos demais tratamentos. Apesar da P-ASE do SPSI não ter diferido do PCSI e PNSI, os resultados da Tabela 11 revelaram que o teor de P-Mehlich 1 do tratamento PNSI ( $1,97 \text{ mg dm}^{-3}$ ) foi superior ao do SPSI ( $1,56 \text{ mg dm}^{-3}$ ). Outro aspecto a ser considerado, diz respeito à diferença significativa dos teores de C org (Tabela 10) nos solos dos respectivos tratamentos (SPSI e PNSI), onde o maior teor de C org ( $17,12 \text{ g dm}^{-3}$ ) do PNSI pode ter proporcionado uma maior mineralização de formas orgânicas de Po (das frações lábeis, moderadamente lábeis e não lábeis) para inorgânicas (P-Mehlich 1, Tabela 11). Considerando-se os tratamentos CI, a presença da bactéria *Pseudomonas fluorescens* proporcionou o maiores valores da P-ASE nos solos dos tratamentos PTCI ( $163,44 \mu\text{g PNFh}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo), PCCI ( $166,93 \mu\text{g PNFh}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo) e PNCI ( $156,63 \mu\text{g PNFh}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo), diferindo dos demais tratamentos. Porém, ao comparar estes resultados obtidos da P-ASE com os obtidos para P-Mehlich 1 (Tabela 11), notou-se que o tratamento PNCI proporcionou o maior valor de P-Mehlich 1 ( $2,82 \text{ mg dm}^{-3}$ ), confirmando a interação sinérgica entre a inoculação da *Pseudomonas fluorescens* no milho com a palhada do nabo forrageiro no processo de solubilização de P no solo (AMARAL et al., 2004; (RICHARDSON, 2001).

Apesar da atividade da P-ASE do solo do tratamento PNSI ( $218,98 \mu\text{g PNFh}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo) ter sido maior e diferido do tratamento PNCI ( $156,63 \mu\text{g PNFh}^{-1} \text{g}^{-1}$  solo), em termos de eficiência de solubilização do P do solo, o tratamento PNCI foi superior em relação ao tratamento PNSI, ou seja, o teor de P-Mehlich 1 (Pi lábil) no solo do tratamento PNCI foi de  $2,82 \text{ mg dm}^{-3}$  contra  $1,97 \text{ mg dm}^{-3}$  do PNSI (Tabela 11). Desta forma, pode-se inferir que a atividade da P-ASE foi inversamente proporcional à disponibilidade de P no solo, ou seja, a atividade da fosfatase foi maior em condições de menor disponibilidade de P no solo (YUN & KAEPLER, 2001), transformando Po em Pi o qual contribuiu para o aumento de sua disponibilidade (labilidade do P no solo).

**Tabela 16.** Teores médios de P-ASE ( $\mu\text{g PNF h}^{-1} \text{g}^{-1}$ ) nos solos congelados coletado aos 75 DAS do milho em função dos tratamentos sem palhada (SP), palhada de ervilhaca comum (PE), palhada de tremoço branco (PT), palhada de crotalaria (PC) e palhada de nabo forrageiro (PN), combinados sem inoculação (SI) e com inoculação (CI) com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho.

Tratamentos	SI		CI	
	P-ASE ( $\mu\text{g PNF h}^{-1} \text{g}^{-1}$ solo)			
SP	196,63	aA	135,85	bB
PE	149,99	bA	145,68	bA
PT	166,09	bA	163,44	aA
PC	208,28	aA	166,93	aB
PN	218,98	aA	156,63	aB

C.V. (%) = 7,21

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

## Conclusões

As variáveis consideradas no desenvolvimento/crescimento da cultura do milho foram influenciadas, em sua maioria, somente pelo fator tipos de palhada testados, exceto as

variáveis CE, PGS e P-GR as quais apresentaram resposta à interação tipos de palhadas e modos de inoculação de *Pseudomonas fluorescens*.

Da mesma forma, a maioria dos atributos químicos do solo também foram influenciados apenas pelo fator tipos de palhadas, exceto para as variáveis P-Mehlich1 e PR as quais foram influenciadas pela interação de tipos de palhadas e modos de inoculação, justificando-se a recomendação do manejo com palhada de nabo forrageiro no inverno e adoção da inoculação com *Pseudomonas fluorescens* nas sementes de milho no verão, visando elevar a disponibilidade de P no solo para a cultura do milho.

Os resultados de pesquisa obtidos apontaram para a adoção de uma forma de manejo de baixo custo e agroecologicamente correta que proporcionou a recuperação do P não lábil do solo utilizado, permitindo desta forma a redução efetiva do uso de adubos fosfatados na cultura do milho.

### **Agradecimentos**

À Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS pelo apoio financeiro concedido no período de capacitação.

À Universidade Estadual de Maringá- UEM pelo apoio de laboratórios e supervisão deste trabalho de pesquisa.

### **Referências Bibliográficas**

- AFZAL, A. e BANO, A. *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum*). **International Journal of Agriculture and Biology**. vol.10, n. 1, p. 85-88. 2008.
- ALVAREZ, V.H. DIAS, L. E. ; JUNIOR, E. S. R.; SOUZA, R. B. DE; FONSECA, C. A. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 131p.
- AMARAL FILHO, J. P. R.; FORNASIERI FILHO, D.; FARINELLI, R.; BARBOSA, J.R. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.467-473, 2005.
- BALDANI, J. I.; OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S. **Processos e Mecanismos Envolvidos na Influência de Micorganismos Sobre o Crescimento Vegetal**. 1ª Ed. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 40p.
- CALEGARI, A. et al. **Adubação verde no Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Assessoria de Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 1993. 346 p.
- CARDOSO, I.C.M.; MARIOTTO, J. R.; KLAUBERG FILHO, O.; SANTOS, J. C. P.; FELIPE, A. F.; NEVES, A.N.; MIQUELUTTI, D. J. Resposta de milho (*Zea mays* L.) precoce à inoculação de rizobactérias em casa de vegetação. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 28; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 12; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 10; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 7, 2008, Londrina. **Anais...**Londrina: Fertibio, 2008.
- CARVALHO, A.M. et al. Disponibilidade de fósforo em latossolo sob cultivo de milho e plantas de cobertura. In: **II Simpósio Internacional Savanas Tropicais e IX Simpósio Nacional Cerrado**. ParlaMundi, Brasília, DF. 12 a 17 de outubro de 2008.
- CHAIHARN, M.; LUMYONG, S. Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand. **World Journal Microbiology Biotechnology**, Oxford, v.25, p.305-314, 2009.
- COELHO, L. F.; 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**, Viçosa, v.31, p.1413-1420, 2007.
- COSTA, E. M.; LIMA, W.; OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MOREIRA, F. M. S. Bactérias solubilizadoras de fosfatos inorgânicos aumentam o crescimento e o acúmulo de nutrientes em plantas de arroz. XXXV Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Centro de Convenções - Natal/RN. 02 a 07 de Agosto de 2015.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária, 2ª Edição, Editor Técnico Fábio César da Silva. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2009. 627p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 2006. 306p.

ESTRADA, G. A.; BALDANI, V. L. D.; DE OLIVEIRA, D. et al. Selection of phosphate-solubilizing diazotrophic *Herbaspirillum* and *Burkholderia* strains and their effect on rice crop yield and nutrient uptake. **Plant and Soil**, 369:115-129, 2013.

FIGUEIREDO, M.V.B.; SELDIN, L.; ARAUJO, F.F. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications In: MAHESHWARI, D.K. (Ed.) **Plant growth and health promoting bacteria**. 1.ed. Berlin: Springer-Verlag, v.18, p.45-68. 2010.

FRANCHINI, J.C.; MEDA, A.R.; CASSIOLATO, M.E.; MYIAZAWA, M.; PAVAN, M.A. Potencial de extratos de resíduos vegetais na mobilização de calcário no solo por método biológico. **Scientia Agricola**, v.58, p.357-360, 2001.

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

GOEDERT, W.J.; SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. Fósforo. In: GOEDERT, W.J.(Ed.). Solos dos Cerrados: Tecnologia e estratégias de manejo. Planaltina: Embrapa-CPAC; São Paulo: Nobel, 1986. p.129-163.

HALDER, A.K.; CHAKRABARTTY, P.K. Solubilization of inorganic phosphates by *Rhizobium*. **Folia Microbiology**, v. 38, p.325-330, 1993.

HOYT, P. B.; TURNER, R. C. Effect of organic materials added to a very acid soil on pH, aluminium, exchangeable  $\text{NH}_4^+$ , and crop yield. **Soil Sci.**, v. 119, p. 227-237, 1975.

IAPAR, Sugestão de adubação e calagem para culturas de interesse econômico no Estado do Paraná. Londrina. PR: **Instituto Agrônomo do Paraná**. 2003, 30 p. (Circular, nº 128)

ILLMER, P.; SCHINNER, F. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v.24, p.389-395, 1992.

JHA, B.K.; PRAGASH, M.G.; CLETUS, G.; RAMAN, G.; SAKTHIVEL, N. Simultaneous phosphate solubilization potential and antifungal activity of new fluorescent pseudomonad strains, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. plecoglossicida* and *P. mosselii*. **World Journal Microbiology Biotechnology**, Oxford, v.25, p.573-581, 2009.

JOHNSON, S.E.; LOEPPERT, R.H. Role of organic acids in phosphate mobilization from iron oxide. **Soil Science Society America Journal**, Madison, v.70, p.222-234, 2006.

KLOEPPER, J.W.; LIFSHIT Z.; R.; SCHROTH, M.N. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. **ISI Atlas of Science: Animal and Plant Science**. p.60-64, 1988.

LIN, T.F.; HUANG, H.; SHEN, F.T.; YOUNG, C.C. The protons of glucônico acid are the major factor responsible for the dissolution of tricalcium phosphate by *Burkholderia cepacia* CC-A174. **Bioresource Tecnology**, v.97, p.957-960, 2006.

MARRA, L. M. **Fixação biológica de nitrogênio e solubilização de fosfatos por bactérias isoladas de nódulos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]**. Lavras : UFLA, 2009.87 p. : il. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

MARRA, L. M.; SOARES, C. R. F. S.; OLIVEIRA, S. M. et al. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. **Plant and Soil**, 353:289-307, 2012.

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

MENDES, I.de C.; JUNIOR, F.B. dos F. **Microrganismo e Disponibilidade de fósforo (P) nos Solos: uma análise crítica**. 1ª Ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. 24p.

NAHAS, E. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolates from soil. **World Journal Microbiology Biotechnology**, Oxford, v.12, p.567-572, 1996.

NEILANDS, J. B. Iron absorption and transport in microorganisms. **Annual review of nutrition**, v. 1, n. 1, p. 27-46, 1981.

OLIVEIRA, M. A. **Adubação mineral e inoculação a base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho**/ Mariana Alves Oliveira de. – Londrina, 2010. 87 f. : il. Orientador: Claudemir Zucareli. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2010.

OLIVEIRA, M. A.; ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C. R.; FERREIRA, A.S.; DOMINGUES, A. R.; SPOLAOR, L. T.. Componentes de Produção e Produtividade do Milho em Resposta a Doses de Fósforo e Inoculação com *Pseudomonas fluorescens*. **XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO** - Águas de Lindóia - 26 a 30 de Agosto de 2012.

OLIVEIRA, M. A.; ZUCARELI, C.; FERREIRA, A. S.; DOMINGUES, A. R.; SPOLAOR, L. T. e NEVES, C. S. V. J. Adubação fosfatada associada à inoculação com *Pseudomonas fluorescens* no desempenho agrônomo do milho. **Revista de Ciências Agrárias**. 2015, 38(1): 18-25.

OLIVEIRA-LONGATTI, S. M.; MARRA, L. M.; SOARES, L. B. Bacteria isolated from soils of the western Amazon and from rehabilitated bauxite-mining areas have potential as plant growth promoters. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 29:1-12, 2014.

QUADROS, P. de D. **Inoculação de *Azospirillum* spp. em sementes de genótipo de milho cultivados no Rio Grande do Sul**. 2009. Mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RICHARDSON, A. E. Soil microorganisms and phosphorus availability. In: PANKHURST, C.E.; DOUBE, B.M.; GUPTA, V.V.S.R.; GRACE, P.R. (Ed). **Soil biota management in sustainable farming systems**. Melbourne: CSIRO, p.50-62. 1994.

RICHARDSON, A.E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of plant physiology, Victoria**, v.28, p.897-906, 2001.

SAADI, A; OLIVEIRA, M. SHUMACHER, M. V.; ACCIOLY, J. O. Desertificação. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Vol. 25. Nº 1, 2000 (Boletim Informativo).

SILVA, F. DE A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SOUZA, C.M. de A. **Mobilização de Fósforo e Crescimento de Leguminosas Submetidas a diferentes Níveis de Adubação com Fosfato de Rocha**. Universidade Federal Rural da Amazônia, 2006, 77p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Belém, 2006.

SOUZA, R.F. et al. Calagem e Adubação Orgânica: influência na adsorção de fósforo em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30:975-983, 2006.

TABATABAI, M. A. ; BREMNER, J. M. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity. **Soil Biol. Biochem.**, v. 1, p.301-307, 1969.

YUN, S.J.; & KAEPLER, S.M. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation. **Plant Soil**, 237:109-115, 2001.

ZUCARELI, C.; CIL, I.R.; PRETE, C. E. C.; PRANDO, A. M. Eficiência agrônomo da inoculação à base de *Pseudomonas fluorescens* na cultura do milho. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 4, n.13, p.152-157, 2011.