

Universidade Estadual do Norte do Paraná

Repositório Institucional UENP

<https://repositorio.uenp.edu.br>

Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Dissertações

2024-08-06

Rizobactérias no tratamento de semente de soja e milho

Belani, Rafael Brugnera

Universidade Estadual do Norte do Paraná

BELANI, Rafael Brugnera. Rizobactérias no tratamento de semente de soja e milho.

Orientador: Leopoldo Sussumu Matsumoto. 2024. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Campus Luiz Meneghel, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, 2024.

<https://repositorio.uenp.edu.br/handle/123456789/291>

Baixado de Repositório Institucional UENP



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
CAMPUS LUIZ MENEGHEL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MESTRADO EM AGRONOMIA

RAFAEL BRUGNERA BELANI

**RIZOBACTÉRIAS NO TRATAMENTO DE SEMENTE DE SOJA E
MILHO**

BANDEIRANTES-PR-BRASIL

2024

RAFAEL BRUGNERA BELANI

**RIZOBACTÉRIAS NO TRATAMENTO DE SEMENTE DE SOJA E
MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Agronomia, da Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

Orientador: Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto.

BANDEIRANTES-PR

2024

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

B4266r Belani, Rafael Brugnera.
Rizobactérias no tratamento de semente de soja e milho / Rafael
Brugnera Belani. – 2024.
46 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do
Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Centro de Ciências
Agrárias, Programa de Pós-graduação em Agronomia, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Piraclostrobina - Dissertação. 2. Bacillus firmus - Dissertação. 3.
Azospirillum brasilense - Dissertação. 4. Fixação biológica de nitrogênio
- Dissertação. 5. Biomassa microbiana. I. Matsumoto, Leopoldo
Sussumu. II. Universidade Estadual do Norte do Paraná. Campus Luiz
Meneghel. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-graduação
em Agronomia. III. Título.

CDD: 631.4 (22.ed.)

RAFAEL BRUGNERA BELANI

**RIZOBACTÉRIAS NO TRATAMENTO DE SEMENTE DE SOJA E
MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Agronomia, da Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

Aprovado em: 06/08/2024

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto

UENP

Prof. Dr. Itacir Eloi Sandini

UNICENTRO

Prof. Dr. Oriel Tiago Kolln

UENP

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto
Universidade Estadual do Norte do Paraná,
Campus Luiz Meneghel

DEDICATÓRIA

Aos amores da minha vida Ana Maria e Arthur João Belani por todo amor e carinho dedicado e apoio ao longo de toda a minha vida acadêmica. Meu profundo e eterno agradecimento.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção divina, sempre orientando espiritualmente nas decisões corretas e protegendo nas viagens e deslocamentos. Obrigado por guiar meus passos e a trilhar os passos a serem seguidos.

A minha esposa Ana Maria por estar ao meu lado, incentivando, apoiando e pela paciência em suportar a distância semanal de nosso lar. Ao meu filho Arthur João, fonte de inspiração, o qual a cada dia, nos motiva a buscar nossa superação de vida. Agradeço por todo o amor transmitido a mim nos momentos em que mais precisei e por acreditarem que seria capaz de vencer mais uma batalha. Compartilho com vocês essa conquista.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto pela disposição em orientar, ensinar e por todas as contribuições de âmbito profissional, as quais levarei para toda a vida.

Ao colega de trabalho Senio Matheus Telles Prestes pela ajuda desde o começo do trabalho e por todo conhecimento que compartilhou comigo durante a minha trajetória no mestrado.

A Empresa BASF e toda a liderança, pelo apoio e incentivo nesta jornada de aprendizado.

Aos profissionais do Laboratório de Microbiologia do Solo – Lab MicroS. Pelo suporte nas análises efetuadas, garantindo a qualidade e profissionalismo das análises utilizadas nesta dissertação.

BELANI, R. B. **Rizobactérias no tratamento de semente de soja e milho**. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus Luiz Meneghel*, Bandeirantes, 2024.

RESUMO

A soja e o milho estão difundidos no mundo inteiro, tendo grande importância econômica no Brasil, no entanto pragas e doenças são responsáveis por perdas substanciais na agricultura. Para o controle desses fitopatógenos, as sementes tem recebido tratadas com produtos químicos. O solo é rico em organismos promotores de crescimento de plantas que habitam a rizosfera das plantas, e estas apresentam multifunções, como disponibilização de nutriente e controle de patógenos. Neste contexto a utilização e o manejo de alguns microrganismos presentes nos solos têm mostrado bons resultados no controle de fitopatógenos. O tratamento de sementes com microrganismos antagonísticos, pode proporcionar o controle de patógenos habitantes da superfície das sementes e de patógenos presentes no solo. A influência residual da inoculação com rizobactérias é uma alternativa viável, uma vez que essas bactérias possuem afinidade para se associarem benéficamente com essas culturas em uma relação simbiótica, fato que permite a melhor absorção de nutrientes e a fixação biológica de N no caso da soja, o que pode elevar a lucratividade, diminuir ou até anular investimentos em fertilizantes químicos nitrogenados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do tratamento de sementes de soja e milho com diferentes rizobactérias nos atributos do microbiológico do solo e desenvolvimento da planta soja e do milho. O experimento foi instalado em campo na Estação Experimental da BASF, na cidade de Santo Antônio de Posse, SP, em blocos casualizados, num solo Vermelho Distrófico. O ensaio foi composto por 5 tratamentos com 8 repetições, sendo Testemunha; Piraclostrobrina + *Bacillus firmus*; *Bacillus firmus*; *Azospirillum brasilense* Ab-V5 e Ab-V6; *Bacillus sp. durante* o período de três (3) safras, sendo: Milho safrinha (2022), Soja (2022/2023) e Milho safrinha (2023). Foram semeadas em parcelas de 3 x 6 m. Em todos os tratamentos, no cultivo do milho inclusive a testemunha foi realizada a aplicação do fungicida e inseticida. Foram realizadas análises microbiológicas, carbono de biomassa microbiana (C_BMS), respiração basal do solo (RBS), quociente metabólico (qCO_2) e microbiano ($qMIC$), atributos agronômicos da planta (Massa Seca da Planta) e produtividade. Os resultados na safra milho (2022), demonstra melhor avaliação microbiológica nos tratamentos *Bacillus firmus* e *Bacillus sp.*, fato observado na produtividade, com destaque no uso de *Bacillus sp.* com ganho incremento em produtividade de 25%. Na safra de milho (2023) nota-se uma melhor ainda maior nos tratamentos de sementes com insumos biológicos, destacando a utilização de *Bacillus sp.* e *B. firmus*, com aumento significativo da comunidade microbiana (C_BMS) e consequente equilíbrio demonstrado na atividade biológica ($qMIC$), fato que influenciou na produtividade superando incremento acima de 30% em relação a testemunha. Na cultura da soja (2022/2023), todos os tratamentos apresentaram melhores resultados nas análises microbiológicas do solo comparado a testemunha, no entanto o tratamento de semente com *A. brasilense* foi o melhor. E, isso pode ser observado na produtividade da soja com incremento expressivo de 13% em relação a testemunha. Assim, podemos concluir que o uso de rizobactérias como *B. firmus* + Piraclostrobrina, *B. firmus*, *A. brasilense* e do *Bacillus sp.* auxiliam na melhoria na manutenção da comunidade microbiana do solo e proporcionam ganhos na produtividade das culturas da soja e do milho, destacando o uso de *Bacillus sp.* no milho e *A. Brasilense* na soja

Palavras-chave: Atributos microbiológicos do solo, insumos biológicos, *Bacillus sp.*, *Bacillus firmus*, *Azospirillum brasilense*

BELANI, R. B. **Rhizobacteria in the treatment of soybean and corn seeds.** Master's Thesis in Agronomy – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2024.

ABSTRACT

Soybeans and corn are widespread throughout the world, having great economic importance in Brazil, however pests and diseases are responsible for substantial losses in agriculture. To control these phytopathogens, the seeds have been treated with chemical products. The soil is rich in plant growth-promoting organisms that inhabit the rhizosphere of plants, and these have multifunctions, such as providing nutrients and controlling pathogens. In this context, the use and management of some microorganisms present in soil have shown good results in controlling phytopathogens. Treating seeds with antagonistic microorganisms can provide control of pathogens that live on the surface of seeds and pathogens present in the soil. The residual influence of inoculation with rhizobacteria is a viable alternative, since these bacteria have an affinity to associate beneficially with these crops in a symbiotic relationship, a fact that allows for better nutrient absorption and biological N fixation in the case of soybeans. which can increase profitability, reduce or even cancel investments in chemical nitrogen fertilizers. The objective of this work was to evaluate the influence of treating soybean and corn seeds with different rhizobacteria on the microbiological attributes of the soil and the development of the soybean and corn plants. The experiment was installed in the field at the BASF Experimental Station, in the city of Santo Antônio de Posse, SP, in randomized blocks, on a Dystrophic Red soil. The trial consisted of 5 treatments with 8 replications, being Control; Piraclostrobina + *Bacillus firmus*; *Bacillus firmus*; *Azospirillum brasilense* Ab-V5 and Ab-V6; *Bacillus* sp. during the period of three (3) harvests, namely: off-season corn (2022), soybeans (2022/2023) and off-season corn (2023). They were sown in plots measuring 3 x 6 m. In all treatments, in corn cultivation, including the control, fungicide and insecticide were applied. Microbiological analyzes were carried out, microbial biomass carbon (C_BMS), soil basal respiration (RBS), metabolic (qCO_2) and microbial quotient ($qMIC$), plant agronomic attributes (Plant Dry Mass) and productivity. The results in the corn harvest (2022) demonstrate better microbiological evaluation in the *Bacillus firmus* and *Bacillus* sp. treatments, a fact observed in productivity, with emphasis on the use of *Bacillus* sp. with an increase in productivity of 25%. In the corn harvest (2023), there was an even greater improvement in seed treatments with biological inputs, highlighting the use of *Bacillus* sp. and *B. firmus*, with a significant increase in the microbial community (C_BMS) and consequent balance demonstrated in biological activity ($qMIC$), a fact that influenced productivity, surpassing an increase above 30% in relation to the control. In the soybean crop (2022/2023), all treatments showed better results in the microbiological analyzes of the soil compared to the control, however the seed treatment with *A. brasilense* was the best. And, this can be observed in soybean productivity with a significant increase of 13% in relation to the control. Thus, we can conclude that the use of rhizobacteria such as *B. firmus* + Pyraclostrobin, *B. firmus*, *A. brasilense* and *Bacillus* sp. they help improve the maintenance of the soil microbial community and provide gains in the productivity of soybean and corn crops, highlighting the use of *Bacillus* sp. in corn and *A. Brasilense* in soybeans.

Keywords: Soil microbiological attributes, biological inputs, *Bacillus* sp., *Bacillus firmus*, *Azospirillum brasilense*

LISTA DE ABREVIATURAS

AL	Alumínio;
B_aCl₂	Cloreto de bário;
BPCP	Bactérias promotoras do crescimento;
BMS	Biomassa Microbiana do Solo;
Ca	Cálcio;
CBMS	Carbono da Biomassa Microbiana do Solo;
CLM	Campus Luiz Meneghel;
C.O.T	Carbono Orgânico Total;
C_BMS	Biomassa de carbono do solo;
CO₂	Gás carbônico;
Cm	Centímetros;
COT	Carbono orgânico total;
CTC	Capacidade de troca de cátions;
C₆H₅	Difenilamina
g	Gramas;
H+AL	Acidez potencial;
HCl	Ácido clorídrico;
H₂O	Água;
H₃PO₄	Ácido orto-fosfórico;
K	Potássio;
Kg	Quilogramas;
K₂SO₄	Sulfato de potássio;
K₂Cr₂O₇	Dicromato de potássio;
L	Litro;
Mg	Magnésio;
mL	Mililitro;
mm	Milímetros;
M.O.	Matéria orgânica;
N	Nitrogênio;
P	Fósforo;
pH	Potencial hidrogênioônico;
qCO₂	Quociente Metabólico;
qMIC	Quociente Microbiano;
RBS	Respiração Basal do solo;
TS	Tratamento de sementes;
UENP	Universidade Estadual do Norte do Paraná;
UFC	Unidade Formadora de colônia;
V	Saturação de base.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análise química do solo inicial.

Tabela 2. Análise dos atributos microbiológicos do solo – inicial.

Tabela 3. Descrição dos produtos aplicados no experimento, em Tratamento de Sementes nas três safras, 2022/2023.

Tabela 4. Híbrido/cultivar, data de plantio, data de colheita, nos diferentes tratamentos e cultivos, aplicados em Tratamento de Sementes.

Tabela 5. Análise dos atributos microbiológicos do solo – Safra Milho 2022.

Tabela 6. Massa seca da planta milho e a produtividade (kg ha^{-1}) e porcentagem de incremento – Safra Milho 2022.

Tabela 7. Análise dos atributos microbiológicos do solo – Safra Soja 2022/23.

Tabela 8. Massa seca da planta soja e a produtividade (kg ha^{-1}) e porcentagem de incremento. Safra Soja 2022/2023.

Tabela 9. Análise dos atributos microbiológicos do solo – Safra Milho 2023.

Tabela 10. Massa seca da planta milho e a produtividade (kg ha^{-1}) e porcentagem de incremento – Safra Milho 2023.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1.	CULTURA DA SOJA	13
2.2.	CULTURA DO MILHO	15
2.3.	TRATAMENTO DE SEMENTES	16
2.4.	FISIOLOGIA DE PLANTAS	19
2.5.	NUTRIÇÃO DE PLANTAS – DISPONIBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES	20
2.6.	QUALIDADE DO SOLO	21
2.7.	MICROORGANISMOS NO SOLO	22
3.	OBJETIVOS	24
3.1	OBJETIVO GERAL	24
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4.	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1.	CARACTERIZAÇÃO DO EXPERIMENTO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.	24
4.2.	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	27
4.2.1.	AMOSTRAGEM DO SOLO	27
4.2.2.	AVALIAÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA	27
4.2.3.	CARBONO DE BIOMASSA MICROBIANA	27
4.2.4.	RESPIRAÇÃO BASAL DO SOLO	28
4.2.5.	QUOCIENTE METABÓLICO (Q_{CO_2}) E MICROBIANO (Q_{MIC})	28
4.2.6.	PRODUTIVIDADE	28
4.2.7.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6.	CONCLUSÃO	35
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
8.	REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

A população mundial, atualmente, é de 7,6 bilhões de pessoas, podendo alcançar a marca de 8,6 bilhões até 2030, e de 9,8 bilhões em 2050, com esse ritmo o planeta deve chegar em 2100 com 11,2 bilhões de seres humanos, alcançando um crescimento de 47,3% em relação ao presente, conforme a Organização das Nações Unidas (ONU, 2017) e, conseqüentemente a demanda de alimentos deverá ser duplicada até o final da primeira metade do século (DAGIOS, 2018).

A necessidade de produção de alimentos para uma população crescente é um desafio, pois depende da exploração de novas áreas e/ou aumento da produtividade em áreas já plantadas. Nas duas situações é fundamental a utilização racional dos diversos insumos agrícolas, entre os quais, os corretivos e fertilizantes nas culturas (SILVA, 2001).

O país destaca-se alcançando uma produção total de grãos na safra 2023/2024 de 294,1 milhões de toneladas (CONAB, 2024a). A soja tem um papel de destaque no cenário internacional, sendo o Brasil o maior produtor e exportador de soja no cenário internacional (BRASIL, 2020a)

Barcellos et al. (2017) afirmam que a soja é um dos principais produtos responsáveis pelo crescimento do agronegócio no Brasil, agregando valor ao setor primário da economia e contribuindo significativamente para a economia nacional.

O milho é umas das culturas mais antigas do mundo a sua importância econômica é caracterizada pelas diversas formas de uso deste cereal, que vai da alimentação humana a alimentação animal e até as indústrias de alta tecnologia, como produção de energia alternativa (EMBRAPA, 2024).

Por volta do século XIV quando exploradores europeus desembarcaram nas Américas, o povo nativo os apresentou o milho, e foi a partir de então distribuído em diversas partes do mundo. Hoje o milho é uma das principais culturas produzidas no mundo, juntamente com o trigo, arroz, soja e cana-de-açúcar.

O sucesso no estabelecimento de cultura depende do solo e do ambiente, que deve ser adequado à germinação da semente, emergência da plântula e seu desenvolvimento (DELMOND, 2009). Além disso, Mialhe (2012) afirma que o sucesso da cultura a ser instaladadepende em grande parte, da qualidade do material de propagação, que este seja corretamente selecionado, apresentando alto poder germinativo, excelente vigor e não esteja contaminado por pragas e doenças.

As doenças de plantas são responsáveis por perdas substanciais na agricultura, e a

utilização e o manejo de alguns microrganismos presentes nos solos têm mostrado bons resultados no controle de fitopatógenos, principalmente daqueles causadores de podridões de sementes, raízes e colo de plantas (CRUZ; ROCHA; CAMPOS JUNIOR, 2005).

O tratamento de sementes com microrganismos antagônicos, denominado microbiolização de sementes (LUZ, 1996), pode proporcionar o controle de patógenos habitantes da superfície das sementes e de patógenos presentes no solo.

As rizobactérias são constituintes da microbiota rizosférica e podem ser classificadas como deletérias, benéficas ou neutras, conforme seus efeitos sobre o desenvolvimento das plantas. São capazes de estimular o desenvolvimento das plantas, com a produção de substâncias promotoras de crescimento (PAULA; DEMÉTRIO; MATSUMOTO, 2021); e outros mecanismos, os quais ainda não estão totalmente esclarecidos.

Com o intuito de aumentar a eficiência na utilização de fertilizantes nos sistemas agrícolas mantendo o equilíbrio ecológico aumentou-se, recentemente, o interesse pela manipulação de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs), que apresentam grande potencialidade e praticabilidade. Essas bactérias exercem efeitos benéficos ao promover o crescimento vegetal cuja ocorrência é devida ao aumento da disponibilidade de nutrientes para as plantas, seja pela solubilização de fosfato inorgânico (ZAIDI; MOHAMMAD, 2006) ou pelo maior crescimento das raízes.

Nesse sentido a hipótese do presente estudo, wa inoculação das sementes de soja e milho por Rizobactérias no sistema de cultivo podem ser agregados, para melhoria dos ganhos fisiológicos da planta, nutricionais, enzimáticos e conseqüentemente produtividade, para as culturas em estudo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cultura da soja

A soja (*Glycine max* (L) Merrill) é considerada a principal cultura do agronegócio brasileiro, desempenhando um papel muito importante na economia do país. O Brasil na safra 2019/2020 assumiu o primeiro lugar no ranking mundial de produção e exportação de grãos de soja, o que mostra e demonstra a importância econômica da cultura no país (APROSOJA, 2020). A produção de soja, que representa o principal produto de exportação do Brasil, registrou aumento na safra 2023/24. A estimativa de produção é de 146,9 milhões de toneladas, redução

de 5,2% sobre a safra anterior. Comparativamente à estimativa do segundo levantamento, divulgada em novembro, quando se esperava uma produção de 162,42 milhões de toneladas, tivemos uma redução de 9,8% ou 15,88 milhões de toneladas. Tal redução se deve às baixas precipitações e às temperaturas acima do normal nas regiões produtoras do Centro-Oeste e Sudeste, ocasionando atraso do plantio e perdas na produtividade. A colheita avança para a sua conclusão nos principais estados produtores, atingindo 76,4% no primeiro trimestre de 2024 (CONAB, 2024b).

A soja pode ser empregada para diversas finalidades no mercado interno e externo. Devido a toda sua variabilidade de uso, o produto soja apresenta um valor econômico alto a nível nacional e internacional (BEUTLER et al., 2006).

As condições necessárias de cultivo da cultura é um dos passos essenciais para a obtenção de altas produtividades, principalmente as condições climáticas das áreas em que as plantas serão inseridas, pois o clima não favorável associado com um manejo agrícola ineficiente pode ser responsável pela baixa produção de grãos de soja e assim não atender a demanda mundial. Segundo Battisti (2013), o déficit hídrico é a principal consequência da interação das condições climáticas com as características físicas dos solos e o manejo agrícola das regiões de cultivo responsável pela quebra de produtividade da cultura da soja em todos os anos de cultivo nas regiões produtoras do país. A ineficiência do manejo agrícola adotado nas áreas cultivadas evidência os efeitos climáticos adversos na produção da cultura, principalmente o manejo nutricional, em que a exigência nutricional da soja e o potencial de exportação da cultura são características determinadas por fatores genéticos, porém bastante influenciados por fatores climáticos, pela fertilidade do solo e pelo manejo agrícola adotado (EMBRAPA, 2008).

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um dos pilares de sustentabilidade do sistema de produção de soja no Brasil e resulta em grandes benefícios para o produtor e para o meio ambiente, por dispensar o uso de fertilizantes nitrogenados na cultura, aumentando a competitividade do produto no mercado externo com menor impacto ambiental. Esse processo se dá pela simbiose entre bactérias do gênero *Bradyrhizobium* e as plantas de soja, formando os nódulos radiculares, nos quais as bactérias se abrigam e recebem proteção, nutrientes e fontes de energia da planta hospedeira. Em troca, capturam o nitrogênio atmosférico (N₂) e, pela ação da enzima nitrogenase sintetizada pela bactéria, o reduzem a amônia que, na sequência, é transformada em compostos nitrogenados exportados para a planta. O emprego de estirpes elite de *Bradyrhizobium* nos inoculantes, que foram selecionadas pela pesquisa ao longo de décadas, assegura o suprimento do N necessário para a cultura, mesmo em altos níveis de produtividade (HUNGRIA; NOGUEIRA, 2019). Cabe salientar a grande exigência da soja por N, mais de

oitenta kg do nutriente para cada tonelada de grãos produzidos (SEIXAS et al., 2020).

A inoculação é essencial em áreas de primeiro ano de cultivo de soja, ou onde a leguminosa não é cultivada há muito tempo, pois as bactérias fixadoras de N₂ estão ausentes ou em baixa população no solo. Entretanto, mesmo em áreas frequentemente cultivadas com soja, é vantajoso realizar a inoculação a cada safra, durante a instalação da cultura, seja via sementes ou aplicado no sulco de semeadura. Pesquisas mostram que o ganho médio da inoculação anual da soja com *Bradyrhizobium* em áreas tradicionais de cultivo é de 8% (HUNGRIA; NOGUEIRA, 2019), o que representa um grande retorno, frente ao baixo custo do inoculante.

Além da inoculação anual com *Bradyrhizobium*, a Embrapa passou a indicar, a partir de 2013, o uso conjunto de uma segunda bactéria para a inoculação da soja, em um processo denominado de coinoculação (HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013).

Embora os benefícios da inoculação anual sejam comprovados, muitos agricultores ainda não utilizam tal prática, por observarem que em áreas cultivadas por várias safras consecutivas, mesmo sem inocular, ocorre a formação de nódulos nas raízes da soja pela população estabelecida de *Bradyrhizobium* no solo. Entretanto, o não uso de inoculante nessas áreas faz com que o produtor deixe de ganhar, em média, 8% de produtividade, conforme já mencionado (HUNGRIA; NOGUEIRA, 2019). Já a coinoculação, embora seja uma tecnologia mais recente, encontra-se em franca expansão e já atinge cerca de 25% das áreas cultivadas com soja no Brasil, segundo informações da Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes - ANPII. (PRANDO et al., 2016).

2.2. Cultura do Milho

O milho é um dos cereais de maior importância mundial (FOSTER et al., 2016). A cultura no ano de 2020 alimentou uma população de mais de 630 milhões de pessoas em todo o mundo, o que correspondeu a 8% de toda demanda pelo grão mundialmente (BRASIL, 2020).

Atualmente o Brasil é o segundo maior exportador e o terceiro maior produtor de milho, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e China (COELHO, 2022).

O Brasil possui, atualmente, cerca de 78,2 milhões de hectares cultivados, destinados à produção de cereais, leguminosas e oleaginosas. O milho (*Zea mays*) ocupa cerca de 15,67 milhões de hectares produzindo em torno de 115,8 milhões de toneladas, redução de 15 milhões de toneladas safra 2023, conforme Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2024).

Um dos desafios dos produtores é aumentar a produtividade de forma a suprir a crescente demanda mundial de alimentos, de forma sustentável (SAATH et al., 2018). Em grande parte deste cultivo há uma dependência de aplicações de defensivos agrícolas, onde este

uso indiscriminado contamina fauna e flora, solo, ar e recursos hídricos. O solo, por exemplo, tem sua estrutura física afetada por graves problemas de compactação, devido ao uso indevido de maquinário, e estrutura química e vida biológica desequilibradas pelo emprego de monocultura, sucessivas aplicações de adubos sintéticos e pesticidas. Sobre uso intensivo de fertilizantes, Hungria; Campos; Mendes (2001) mencionam que os fertilizantes nitrogenados e fosfatados podem levar a uma dependência nutricional do solo e podem matar fungos (como as micorrizas) e bactérias, que são de extrema importância para o desenvolvimento natural das plantas e boa condição do solo.

Afortunadamente, se intensificam os estudos sobre cultivos sustentáveis, com ações voltadas para o uso racional e o manejo dos recursos naturais com alternativas ecologicamente corretas. Dentre os insumos alternativos, os microrganismos mais empregados na agricultura por sua conhecida capacidade de diminuir ou até substituir a adubação nitrogenada de alguns cultivos, estão os rizóbios. O termo rizóbio é empregado para designar as bactérias capazes de formar nódulos e realizar a fixação de nitrogênio em simbiose com as leguminosas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Especificamente na cultura do milho, a maioria dos experimentos com rizóbios é relacionado à inoculação de *Azospirillum* de forma isolada ou consorciado com outro(s) rizóbio(s), a coinoculação. Sobre esta técnica Hungria; Nogueira; Araújo (2013) deduzem que a coinoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* pode melhorar o desempenho das culturas, em uma abordagem que respeita as demandas atuais de sustentabilidade agrícola, econômica, social e ambiental. E também que embora existam em outros países estudos que reportem os benefícios da coinoculação de rizóbios e *Azospirillum*, torna-se necessário conduzir ensaios nas condições brasileiras (HUNGRIA; NOGUEIRA, ARAÚJO, 2013). Somente inoculado com *Azospirillum* e se avaliado o aumento no rendimento de grãos do milho há, aproximadamente, um acréscimo de 25%, na maioria dos experimentos apresentados sobre (KENNEDY; CHOUDHURY; KECSKÉS, 2004). No Brasil, Hungria et al. (2010), ao inocularem espécies selecionadas de *Azospirillum* em milho e trigo, encontraram incrementos de, respectivamente, 26 e 30% na produtividade de grãos dessas culturas, além de aumentos das absorções de P e K pelas plantas.

2.3. Tratamento de sementes

O tratamento de sementes é usado principalmente com a finalidade de permitir a germinação de sementes infectadas, controlar patógenos transmitidos pela semente e proteger as sementes de fungos fitopatogênicos do solo (HENNING et al., 1991). Além de conferir

proteção às sementes, o tratamento das mesmas oferece garantia adicional ao estabelecimento da lavoura a custos reduzidos (HENNING, 2005).

Alguns fungos patogênicos transmitidos pelas sementes são economicamente prejudiciais, pois constituem fontes de inóculo para o desenvolvimento de doenças e podem interferir na emergência e estabelecimento das culturas. A prática recomendada para o controle desses patógenos é a aplicação de fungicidas sintéticos no tratamento de sementes, que se tornou indispensável para garantir a sanidade das mesmas. Porém, estudos recentes alertam para o uso excessivo de fungicidas, que podem ocasionar efeitos adversos na saúde humana e na diversidade de microrganismos. Assim, a conscientização ecológica globalizada exige alimentos mais naturais, o que tem levado ao aprimoramento de medidas de controle integrado, através do uso de métodos alternativos para a utilização de sementes livres de resíduos tóxicos (SOUZA et al., 2003).

O processo de inoculação tradicional na soja consiste em aplicar a bactéria nas sementes, desta forma, logo após a germinação a bactéria penetra na radícula, coloniza fixando nitrogênio atmosférico. A utilização da inoculação via sulco permite que o inoculante seja injetado por um sistema de aplicação acoplado à semeadora, no mesmo momento da semeadura. Os tratamentos de sementes são distribuídos em camadas sobre a semente e o inoculante é distribuído no solo, diretamente no sulco de semeadura (LOBO; NOGUEIRA, 2014).

O avanço da tecnologia no tratamento de sementes, além de agroquímicos, o uso de bioprotetores têm crescido na agricultura nacional. Isso possibilita a utilização de muitos outros microrganismos como inoculantes, destacando os *Trichodermas* sp., *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp e *Bacillus* sp, que vem no intuito de reduzir a utilização de defensivos agrícolas sintéticos, os riscos aos operadores e os possíveis prejuízos ao meio ambiente (MERTZ; HENNING; ZIMMER, 2008).

A inoculação de rizobactérias nas plantas (sementes) resultam em vários efeitos fisiológicos importantes. Os *Azospirillum* spp. produzem fitohormônios e reguladores de crescimento que induzem o crescimento de raízes e, conseqüentemente, a maior absorção de água e minerais do solo (OKON; KAPULNIK, 1986), assim como aumento da biomassa da parte aérea (STEENDHOUDT; VANDERLEYDEN, 2000), além de aumentar a resistência a estresse hídrico e salino, produzindo plantas mais vigorosas (HUNGRIA et al, 2010).

Além disso, este gênero é capaz de fixar nitrogênio atmosférico em associação com diversas plantas não leguminosas (DÖBEREINER; DAY, 1976). Porém, por não serem simbióticos, como os rizóbios, mas sim de vida livre, associativos, há certa limitação em sua capacidade de secretar e transferir nitrogênio às plantas às quais se associam (HUERGO et al.,

2008).

Em muitos casos, a inoculação com *Azospirillum* pode, indiretamente, suprimir alguns patógenos, através da competição entre espécies bacterianas, aumento da resistência da planta à infecção patogênica, e pela produção de substâncias antimicrobianas (BASHAN; HOLGUIN; de-BASHAN, 2004).

Diversos trabalhos evidenciam os benefícios da associação *Azospirillum*-plantas. Saubidet; Fatta; Barneix (2002), observaram que plantas de trigo inoculadas com *A. brasiliense* obtiveram peso seco de parte aérea duas vezes maior do que a planta controle não inoculadas, assim como maior teor de N total e grãos com maior concentração. Alguns trabalhos relatam aumento de matéria seca, circunferência de caule, número de folhas, altura da planta, densidade e comprimento de pelos radiculares de tomateiro inoculados (BASHAN; SINGH; LEVANONVY, 1989), provavelmente devido ao aumento nos níveis de AIA (ácido-indol-acético) e etileno liberados pela bactéria.

Um fato notável quando se fala na inoculação com *Azospirillum* é maior o lucro quando outros microrganismos são coinoculados (BASHAN; HOLGUIN, 1997). A coinoculação parece funcionar bem com bactérias solubilizadoras de fosfatos, *Azotobacter*, rizóbios, *Bacillus* e alguns fungos, provavelmente em função da disponibilização sinérgica de nutrientes e pela remoção de produtos inibidores (BASHAN; HOLGUIN; de-BASHAN, 2004). Entre os principais benefícios da coinoculação figuram o aumento na captação de nutrientes, redução do uso de fertilizantes de N e P e 25%-50%, aumento da disponibilidade de NPK no solo, e melhor custo-benefício (BASHAN; HOLGUIN; de-BASHAN, 2004).

Dardanelli (2008) encontraram um efeito geral positivo na coinoculação de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com *Azospirillum-Rhizobium* na expressão de genes ligados à nodulação durante estresse salino. A coinocularam *Azospirillum* e *B. japonicum* e plantas de soja obtendo uma maior nodulação, aumento de massa seca de raiz e parte aérea, assim como maior número de pelos radiculares (GROPPIA; ZAWOZNIK; TOMARO, 1998).

Os extensivos estudos genéticos, bioquímicos e fisiológicos realizados atualmente sobre o gênero *Azospirillum*, caracterizam-no como sendo o mais bem estudado gênero entre os associativos promotores de crescimento de plantas (RODRIGUES et al., 2008). Em função de todos os benefícios já observados a plantas de interesse econômico, a inoculação com *Azospirillum* mostrou grande potencial como ferramenta agrobiotecnológica, o que promoveu o surgimento, recentemente, de um mercado promissor, através da geração de um inoculante que pode ser utilizado em gramíneas, forrageiras e grãos.

A inoculação tradicional de leguminosas consiste em transferir bactérias fixadoras do

nitrogênio do produto inoculante para a superfície das sementes, que durante a germinação e desenvolvimento da plântula, infectarão a mesma, levando à formação de nódulos no sistema radicular, por onde a planta obterá o nitrogênio indispensável ao seu desenvolvimento (MARKS, 2013).

2.4. Fisiologia de Plantas

O investimento em qualidade de sementes é relevante para o incremento na produtividade da cultura, pois deixa de ter importância secundária quando comparado a outras práticas de manejo e uso de insumos. Diante deste contexto, prática rotineira é o tratamento de sementes, com produtos como: micronutrientes, biorreguladores, além de fungicidas e inseticidas. Estes últimos tem propósito de reduzir o inóculo de pragas já existentes nas mesmas, assim como evitar a posterior infecção e também propiciar o controle de insetos-pragas iniciais na cultura. Neste contexto, o tratamento de sementes é utilizado com a finalidade de melhorar a porcentagem de germinação das sementes e o estabelecimento da cultura (PEREIRA et al., 2016).

Lima et al., (2009) descreve que os denominados efeitos fisiológicos atuam de diversas formas: na respiração celular, na mitocôndria, no citocromo Bc1, interferindo transitoriamente no transporte de elétrons e, como consequência, ocorre uma melhor utilização do CO₂, reduzindo gastos de energia, resultando em aumento da fotossíntese líquida, incremento da atividade da nitrato redutase, efeito verde devido ao maior teor de clorofila e diminuição do estresse associado à redução da síntese de etileno, permitindo assim maior duração da área foliar e efeitos sobre o rendimento das culturas.

A atividade fisiológica da planta está associada às principais fontes produtoras de carboidratos dentro da planta, alterando a velocidade e intensidade da senescência foliar, e nos padrões de acúmulo de matéria seca (UHART; ANDRADE, 1995). A quantificação da área foliar fornece informações importantes, como avaliação do rendimento de grãos e efeito de práticas de manejo (SILVA, 2001). Bryson; Leandro; Jones (2000) verificaram que as estrobilurinas afetam o desenvolvimento vegetativo e a área foliar de culturas agrícolas.

De acordo com o fabricante, a piraclostrobina possui longa duração da ação, amplo espectro e fungitoxicidade potente, que são as principais características biológicas que permitem que o produto contribua para altos rendimentos, além disso, apresenta efeitos positivos adicionais sobre o rendimento por sua atuação sobre a fisiologia das plantas (BASF, 2002). Existem 22 produtos comerciais registrados no país com este princípio ativo (AGROFIT,

2019).

Há evidências da atuação benéfica de piraclostrobina na cultura do milho, mesmo na ausência de doenças, proporcionando um incremento de até 7,6% na produtividade (BORTOLINI; GHELLER, 2012).

2.5. Nutrição de Plantas – Disponibilização de nutrientes

Em meados do século XX, o interesse pelos benefícios das bactérias às plantas já se despertava pelos pesquisadores ocidentais, com estudos da então União Soviética sobre bactérias benéficas em raízes de plantas. No entanto, o difícil acesso aos trabalhos soviéticos, associado à falta de análises estatísticas, atrapalhava a aceitação desses estudos, levando a algum descrédito por parte dos ocidentais (BURR; CAESAR, 1984). Somente em 1978, dados resultantes de experimentação realizada por Kloepper (1978) passaram a ser aceitos pela comunidade científica internacional. Esse trabalho propôs, pela primeira vez, o termo “plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)”, derivando, em seguida, a denominação bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs ou PGPB, na sigla em inglês). As BPCPs consistem em um amplo grupo de micro-organismos, habitando qualquer parte da planta (filosfera e tecidos internos) e rizosfera sem provocar prejuízos ao seu hospedeiro, desenvolvendo algum mecanismo direto e/ou indireto que promova melhorias no crescimento e desenvolvimento das plantas (BASU; RABARA; NEGI, 2017). Nos últimos anos, o aumento no interesse de uma agricultura sustentável e ecológica levou os produtores a reduzir o uso de fertilizantes minerais e ao aumento do uso de compostos naturais e práticas como a inoculação das culturas com BPCPs (GARCIA et al., 2017), já que o uso indiscriminado de fertilizantes pode provocar problemas ambientais, como a eutrofização de águas superficiais e subterrâneas, poluição do solo e emissão de gases de efeito estufa (PAREDES et al., 2020; XIA et al., 2020).

As bactérias endofíticas têm sido isoladas e caracterizadas de diversos gêneros da família Poaceae e utilizadas como inoculantes (PATEL; ARCHANA, 2017), com grande potencial no aumento da produtividade e redução de custos, diminuindo a dependência de fertilizantes industrializados (CARVALHO et al., 2017).

As BPCPs promovem crescimento das plantas por diferentes mecanismos que podem ser classificados como biofertilizantes, fitoestimuladores e biopesticidas, com certas bactérias tendo aplicações sobrepostas, sendo que a maioria atua por mais de um mecanismo (BHATTACHARYYA; JHA, 2012), o que é desejável para produção de inoculantes (FERNANDES-JÚNIOR et al., 2015), embora seja difícil determinar as contribuições relativas

de diferentes processos responsáveis pela promoção do crescimento das plantas.

As espécies do gênero *Bacillus* são bactérias gram-positivas, não patogênicas, muito resistentes, proporcionando proteção contra vários tipos de patógenos (VERMA et al. 2019). São bactérias facilmente isoladas no solo, principalmente na rizosfera, onde o sistema radicular das plantas secreta açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que estimulam sua colonização. *Bacillus* spp. colonizam a rizosfera e formam um biofilme ao redor das raízes, proporcionando melhor desenvolvimento e promovendo proteção às plantas (CETINTAS; KUSEK; FATEH, 2018).

As bactérias do gênero *Bacillus* também são conhecidas como Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP) que, além de estimularem o crescimento, produzem enzimas, como antibióticos e compostos com atividade antimicrobiana (FERREIRA; STONE; MARTIN-DIDONET, 2017), que são substâncias tóxicas que podem agir de forma específica no ciclo reprodutivo dos nematoides, principalmente na ovoposição e eclosão dos juvenis. Essas bactérias formam endósporos, que são estruturas de resistência que dão a elas proteção a condições ambientais desfavoráveis, limitações de nutrientes e altas temperaturas (ABD-ELGAWAD; ASKARY, 2018). Outros mecanismos como a produção de fitormônios, solubilização de fosfato e fixação de nitrogênio estão associados frequentemente a essas bactérias (NASSAL et al., 2018).

2.6. Qualidade do solo

O solo é um recurso fundamental para a vida vegetal e animal que faz desse local o seu habitat, por isso a manutenção e a qualidade do solo se tornam extremamente necessárias (MELO et al., 2017). A qualidade do solo é importante pois é através dela que acontecem serviços ambientais, como manutenção da produção biológica, proteção de plantas e de animais (RAIESI; SALEK-GILANI, 2018). A qualidade do solo depende de fatores externos, não sendo possível sua medida direta; dessa maneira, para saber se um solo é saudável, é necessário fazer a medição de outros atributos das plantas, fazer análises físicas, químicas e biológicas do solo e também comparar esses resultados em diferentes solos e tipos de manejo (MUÑOZ-ROJAS, 2018).

Os atributos físicos, químicos e biológicos são usados como indicadores de qualidade. Os físicos incluem a textura, a porosidade e a estabilidade de agregados do solo, enquanto os químicos incluem o pH, a salinidade, o teor de carbono, o fósforo disponível, entre outros (OLIVEIRA-SILVA et al., 2020). A diversidade de organismos que existe no solo, como

minhocas, nematoides, formigas, actinomicetos etc., faz parte dos indicadores biológicos (OLIVEIRA-SILVA et al., 2021).

Processos que ocorrem no solo, como o ciclo de nutrientes e a decomposição da matéria orgânica, são realizados com a participação de microrganismos do solo, que desempenham um papel importante no ecossistema, mantendo a saúde do solo (MATSUNAGA; RODRIGUES; RODRIGUES, 2018). Para caracterizar os componentes biológicos do solo e também avaliar sua qualidade, os indicadores biológicos como carbono da biomassa microbiana (CBMS), respiração basal (RBS) e quociente metabólico (qCO_2) são muito utilizados (MENDES et al., 2018).

A biomassa microbiana é a fração viva no solo, responsável por vários processos bioquímicos e biológicos no solo (KAMBLE; BAATH, 2018). É composta por microrganismos muitos pequenos, como fungos, bactérias, leveduras e outros componentes da microfauna (SOBUCKI et al., 2019). Quando está relacionada com o carbono, a biomassa microbiana permite a obtenção do quociente microbiano, que indica a qualidade da matéria orgânica no solo.

A respiração basal reflete a produção de CO_2 no solo, através da respiração dos microrganismos, e funciona como um indicador sensível, que revela quando há alguma alteração no ambiente. O quociente metabólico do Solo (qCO_2) é a razão entre a respiração do solo por unidade de tempo, pois expressa a quantidade de CO_2 que é liberado pela biomassa microbiana (SANTOS et al., 2020). Os microrganismos são essenciais no solo, pois melhoram a sua qualidade física e química, mas práticas inadequadas de manejo podem afetá-los negativamente e reduzir as qualidades físicas e químicas do solo, ocasionando danos à sua estrutura, compactação e degradação da matéria orgânica (FERREIRA et al., 2018).

2.7. Microrganismos no solo

O solo é um recurso natural e complexo, que abriga uma diversidade de organismos e, por isso, a sua conservação é fundamental para o funcionamento dos diferentes organismos que ali vivem e contribuem para a manutenção da vida. As comunidades de microrganismos que vivem no solo são chamadas de microbiota, que formam ali seu microbioma (HASSANI; DURÁN; HACQUARD, 2018).

A microbiota do solo é composta por numerosos microrganismos, como bactérias, fungos e actinomicetos que interagem em um ambiente em estado de equilíbrio. Dessa maneira, a diversidade microbiana e a funcionalidade do solo são importantes para a agricultura (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016), pois existem grupos funcionais microbianos importantes,

que fazem interação com as raízes das plantas (TRIVEDI et al., 2019) e permitem que ela faça o molde do microbioma em seu benefício. Assim, a planta se beneficia com a ação direta ou indireta dos microrganismos, selecionados com a sua necessidade. Os benefícios podem incluir a absorção de minerais e de nutrientes, a diminuição de organismos patogênicos e também o crescimento de plantas (MITTER; FREITAS; GERMIDA, 2020).

O solo é a principal fonte de nutrientes e minerais para os microrganismos, visto que plantas e animais mortos ajudam no acúmulo de matéria orgânica, que são decompostos por microrganismos. Vários microrganismos são capazes de repelir, inibir ou mesmo levar à morte os fitonematoides e, geralmente, esses microrganismos estão associados ao sistema radicular das plantas em solos com alto teor de matéria orgânica (OLIVEIRA et al., 2019).

Os tipos de manejo do solo afetam os diferentes microrganismos benéficos ou grupos funcionais do solo, que são definidos como grupo de populações de microrganismos (BARBOSA et al., 2019) que fazem um processo de transformação de nutrientes no solo, podendo participar de um ou mais ciclos biogeoquímicos, como nitrogênio, carbono, fósforo e enxofre (PINTO et al., 2019).

O solo, além de ser o substrato para crescimento das plantas e uma grande reserva de nutrientes para as mesmas, é também um ecossistema complexo repleto de microrganismos, nas quais as bactérias são o grupo mais abundante, com valores entre 10^8 – 10^9 células por grama de solo (SCHOENBORN et al., 2004).

Independentemente do número em que se encontram, bactérias podem afetar as plantas de três maneiras diferentes, podendo ser de forma benéfica, neutra ou deletéria. As que influenciam positivamente o crescimento das plantas são as denominadas bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP), que podem ser de vida livre, associadas, endofíticas ou até mesmo formarem relações de simbiose com plantas. Independentemente do tipo de relação com a planta, as bactérias promotoras de crescimento influenciam o crescimento da planta através dos mesmos mecanismos, que podem ser diretos ou indiretos, e podem ocorrer de forma simultânea resultando num efeito cumulativo dos mecanismos que são traduzidos na promoção de crescimento mensurável, como: aquisição de nutrientes, acúmulo de biomassa, teor de pigmentos, atividade de enzimas ligadas à tolerância, à estresse e severidade de doenças (SCHIRAWSKI; PERLIN, 2018).

Historicamente, as bactérias do gênero *Rhizobium* são as mais estudadas e comercializadas quando se fala em promoção de crescimento em plantas, porém, diversos outros gêneros têm se tornado importantes devido a presença de mais de um mecanismo simultaneamente, como por exemplo, bactérias dos gêneros: *Agrobacterium*, *Azospirillum*,

Azotobacter, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Delfitia*, *Paenobacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Streptomyces* (RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019).

Embora as espécies conhecidas dotadas de mecanismos de promoção de crescimento sejam abundantes, seu uso como linha de frente no manejo de culturas ainda é tímido nas maiores potências agrícolas do mundo, incluindo no Brasil. Para que esse mercado se torne mais atrativo, diversos pontos devem ser muito bem esclarecidos: (1) Determinar os mecanismos mais importantes e de maior impacto na produtividade; (2) Obter uma consistência no que diz respeito à regulação dos microrganismos que podem ser utilizados, tendo em vista a questão ambiental; (3) Seleção das estirpes otimizadas para cada condição ambiental; (4) Desenvolvimento de tecnologias de formulação e aplicação, visando diminuir as perdas de viabilidade no armazenamento e na aplicação do princípio ativo (LOBO et al., 2019; RAMAKRISHNA; YADAV; LI, 2019).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a influência do tratamento de semente com rizobactérias, nos atributos microbiológicos do solo e no desenvolvimento do milho e da soja.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a dinâmica da microbiota do solo (atributos microbiológicos), pela influência do tratamento de semente com diferentes rizobactérias.
- Avaliar o desenvolvimento da soja e milho através dos ganhos de produtividade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Caracterização do experimento e delineamento experimental.

O experimento foi realizado na Estação Experimental da BASF, na cidade de Santo Antônio de Posse - SP, localizado a latitude “22°60’43.61”, longitude “46°98’21.944”, altitude de 600 metros ao nível do mar, com clima Subtropical Úmido. O solo da área é caracterizado como Latossolo Vermelho Distrófico, com 47% de argila, 11,3% de silte, 24,6% de areia grossa e 16,5% de areia fina, textura argilosa.

A caracterização inicial do solo quantos a sua fertilidade e atributos microbiológicos estão descritos na Tabela 1 e 2.

Tabela 1. Análise química do solo inicial

TRAT.	M.O g Kg ⁻¹	pH CaCl ₂	P mg dm ⁻³	K ----- mol _c dm ⁻³ -----	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC	V
Inicial	25,2	4,5	1,7	0,1	2,2	0,2	1,7	5,5	8,0	31,2

Dados: M.O (Matéria Orgânica); P (Fósforo); K (Potássio); Ca (Cálcio); Mg (Magnésio); Al (Alumínio); H+Al (Acidez potencial); CTC (Capacidade de Troca Catiônica); V% (Saturação de Base);

Tabela 2. Análise dos atributos microbiológicos do solo – inicial

TRAT	MO g Kg ⁻¹	C_BMS mg C kg ⁻¹	qMIC (%)	RBS mg C-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	qCO ₂ RBS C_BMS ⁻¹
INICIAL	25,18	277,85	1,95	0,186	0,69

Dados: (MO) = Matéria Orgânica; (C_BMS) = Carbono da Biomassa Microbiana; (qMIC) = Quociente Microbiano; (RBS) = Respiração Basal do Solo; (qCO₂) = Quociente Metabólico do Solo.

O estudo foi instalado a campo, contendo cinco (5) tratamentos e oito (8) repetições, distribuídas aleatoriamente, durante o período de três (3) safras, sendo: Milho safrinha (2022), Soja (2022/2023) e Milho safrinha (2023) no sistema de plantio direto. As sementes foram tratadas e acondicionadas à sombra, com volume de calda de 1000 mL 100 kg⁻¹ de sementes para milho e 600 mL 100 kg⁻¹ de sementes para soja, considerado suficiente para realizar uma boa cobertura e distribuição dos produtos nas sementes. O tratamento de semente foi realizado utilizando máquina tipo batelada de modelo Cimbría CC2, com capacidade para dois quilogramas por batelada, após terem sido tratadas foram acondicionados em sacos de papel e mantidos a sombra, em temperatura ambiente.

No cultivo do milho, todos os tratamentos receberam tratamento de semente com aplicação do fungicida Maxim Advanced (fludioxanil + metalaxyl_M + triadimenol) na dose de 20 mL/60.000 sementes e o inseticida Poncho (clothianidina) na dose de 80 mL/60.000 sementes.

Para o cultivo da soja foi utilizado o Fungicida/Inseticida Standak Top (fipronil + piraclostroina + tiofanato metílico) na dose de 200 mL/100 kg de sementes, foi adicionado o inoculante Gelfix 5 (*Bradhirizoium elkanii*) na dose de 100 ml/100 kg de sementes, para auxiliar na fixação de Nitrogenio ao cultivo, a aplicação destes produtos acima descritos tiveram o objetivo de manejar o ataque de pragas e doenças nas fases iniciais dos cultivos, evitando influência externa a análise da aplicação dos produtos objetivo da pesquisa realizada.

Além dos tratamentos padrões na semente de milho e soja acima descritos, estes foram tratadas com produtos químicos e biológicos (Tabela 3) para cada cultura a sua dose recomendada, perfazendo os 4 tratamentos, e mais a testemunha.

Tabela 3. Descrição dos produtos aplicados no experimento, em Tratamento de Sementes nas três safras, 2022/2023.

Produto	Ingrediente Ativo	Concentração g/L	Formulação	Milho Dose em ml/ 60.000	Soja dose ml/100 kg
Pira+ <i>B. firmus</i>	Fipronil Piraclostrobina Mefentrifluconazole <i>B. firmus</i> – I 1582	522	FS – Solução Concentrada p/ Trat. Sem.	100	200
<i>B. firmus</i>	<i>B. firmus</i> – I 1582	240 4×10^9 UFC/mL	FS – Solução Concentrada p/ Trat. Sem.	50	100
<i>A. brasilense</i>	<i>A. brasilense</i> Ab-V5 e Ab-V6	2×10^8 UFC/mL	Liquido	100	200
<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	1×10^9 UFC/mL	Liquido	150	300

O cultivo do milho e da soja foram conduzidas na mesma área, contendo 3 metros de largura por 6 metros de comprimento, perfazendo área de 18 m² por parcela, com 8 repetições.

Foi adotada sementeira de 60 mil sementes por hectare para o cultivo do milho e trezentas e 50 mil sementes para o cultivo da soja sendo o equivalente a 50 kg de sementes por hectare, considerando peneira 6,5 mm e peso de mil sementes de 162 gramas. A sementeira foi efetuada com plantadora de parcela a vácuo, modelo Sementeira de Parcela - SB Máquinas. Foi adotado velocidade de sementeira de quatro km/h, para garantir a distribuição uniforme e profundidade adequada das sementes. Foi padronizado a profundidade de plantio de cinco centímetros para o cultivo do milho e de três centímetros para o cultivo da soja.

O espaçamento entre linhas utilizado para o cultivo do milho e da soja foi de cinquenta centímetros entre linhas e seis metros de comprimento, totalizando seis linhas de plantio por parcela.

As culturas utilizadas nos estudos foram instaladas no sistema de plantio direto. Os cultivares/híbridos, data de plantio e colheita estão descritos na Tabela 4. Juntamente com a sementeira efetuou-se uma adubação de base com 250 kg/hectare do adubo formulado (NPK) 10-18-18 para o cultivo do milho e com 300 kg/hectare do adubo formulado (NPK) 00-10-10 para o cultivo da soja. Complementarmente no cultivo do milho, foi efetuado adubação de cobertura com 90 kg de nitrogênio kg/hectare no formato de Ureia.

Tabela 4. Híbrido/cultivar, data de plantio, data de colheita, nos diferentes tratamentos e cultivos, aplicados em Tratamento de Sementes.

	Milho safrinha Safrinha 2022	Soja Safrinha 2022/2023	Milho safrinha Safrinha 2023
Híbrido/Cultivar	BM 855 Pro2	BMX POTÊNCIA RR	BM 855 Pro2
Data de Plantio	26/03/2022	28/10/2022	22/02/2023
Colheita	02/09/2022	15/02/2023	28/08/2023

4.2. Análises Microbiológicas

4.2.1. Amostragem do solo

As amostras de solo para análises microbiológicas foram coletadas nas 3 safras no momento final da fase vegetativa e início da fase reprodutiva, onde foram coletadas em zigue-zague, com auxílio de um trado holandês, na profundidade de 10 cm, 7 amostras simples para compor uma amostra composta, totalizando quatro repetições por área. O material foi acondicionado em sacos plásticos identificados e transportado para o laboratório, onde foi peneirado em malha de 2 mm e mantido em geladeira até o momento da análise (EMBRAPA, 2009).

4.2.2. Avaliação da Comunidade Microbiana

Nas análises microbiológicas foram avaliados Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), Respiração basal (RBS), Quociente metabólico (qCO_2) e Quociente microbiano ($qMIC$).

4.2.3. Carbono de biomassa microbiana

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi avaliado pelo método proposto por Vance et al. (1987), via fumigação-extração das amostras. As amostras de solo de cada uma das áreas foram separadas e pesadas em 20 g com e sem fumigação, permanecendo no escuro sob temperatura de 25 ± 2 °C por 24 horas.

Para extração do carbono microbiano, foram adicionados nas amostras 50 mL de sulfato de potássio (K_2SO_4) a 0,5 M, agitando-se por 30 minutos a 220 rpm. Em seguida, as amostras foram filtradas, 4 mL foram retirados do sobrenadante, adicionando-se 1 mL de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) 0,066 M, 5 mL de ácido sulfúrico P.A (H_2SO_4) e 5 mL de ácido orto-fosfórico (H_3PO_4) 85%. Após o resfriamento, 35 mL de água deionizada e difenilamina (C_6H_5)₂NH 1% foram adicionados às amostras.

O sulfato ferroso amoniacal $[(\text{NH}_4)_2 \text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ a 0,033 M foi usado para fazer a titulação, sendo o ponto de viragem a mudança da cor púrpura para a cor verde. Para obtenção do carbono de biomassa microbiana de cada amostra, foi realizada a subtração entre os teores de carbono do solo fumigado e não fumigado.

4.2.4. Respiração Basal do Solo

A respiração basal do solo (RBS) foi determinada de acordo com o proposto por Silva et al. (2007). Para isso, 50 g de cada amostra de solo foram adicionadas em frascos de vidro snap-caps, sendo separados 10 mL da solução receptora NaOH 1 M, e transferidas junto com as amostras de solo para frascos de vidro de 2 L, hermeticamente fechados, onde foram armazenados por sete dias no escuro ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Após 7 dias, 2 mL de cloreto de bário (BaCl_2) 10% e 2 gotas de fenolftaleína 1% foram adicionadas junto à solução de NaOH. A titulação foi feita com ácido clorídrico (HCl) 0,5 M. A mudança de cor de rosa para incolor indicou o ponto de viragem.

4.2.5. Quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) e microbiano ($q\text{MIC}$)

O $q\text{CO}_2$ foi obtido pela relação entre a respiração basal do solo e o carbono da biomassa microbiana, enquanto o $q\text{MIC}$, pela relação do carbono da biomassa microbiana (CBM) e o carbono orgânico total (COT).

4.2.6. Produtividade

A produtividade foi realizada em ambos os cultivos, a colheita foi efetuada com colhedora de parcela modelo Winterstaiger e foram colhidas quatro (4) linhas de cinco (5) metros totalizando uma área colhida de dez (10) metros quadrados por parcela, nas oito repetições e transformado a produção em Kg hectare^{-1} , e corrigida a umidade dos grãos a treze (13) por cento de umidade.

4.2.7. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância, com auxílio do Software SISVAR (FERREIRA, 2019).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise inicial dos atributos microbiológicos do solo (Tabela 2), demonstra que a comunidade microbiana do solo (C_BMS) apresenta-se em equilíbrio em relação a quantidade de matéria orgânica presente, demonstrado pelo q_{MIC} (1,95) e q_{CO_2} baixo. O q_{MIC} tem sido reportada como medida da qualidade da matéria orgânica do solo (WARDLE, 1994), expressando a eficiência da biomassa microbiana em utilizar o C orgânico do solo. Segundo Jenkinson; Ladd (1981), o valor dessa relação em torno de 1,8 a 2,2% é considerado como em equilíbrio e que valores maiores ou menores podem expressar ocorrência de acúmulo ou perda de C do solo, respectivamente.

A razão entre a RBS e o CBMS gera o quociente metabólico (q_{CO_2}), capaz de apontar tendências de estresses causados por distúrbios, sendo tais níveis representados por valores de eficiência em desempenhar funções metabólicas (ANDERSON; DOMSCH, 1990). O uso do q_{CO_2} como bioindicador fundamenta-se na teoria da respiração da comunidade, a qual descreve que o aumento da respiração pode ser um dos primeiros sinais de estresse, uma vez que a remediação de danos gerados por distúrbios no solo ocasiona um desvio energético do crescimento e da reprodução para a manutenção celular. Este estresse da biomassa microbiana, leva a uma perda do C na forma de CO_2 (ARAÚJO; MOTEIRO, 2007).

Na safra 2022 do milho, observa-se que a população de microrganismos do solo (C-BMS) se manteve em relação à análise inicial, porém destaca-se um aumento maior nos tratamentos com *Bacillus firmus* e *Bacillus* sp. No entanto, a sua razão em função do Carbono Orgânico Total, apresentou queda em todos tratamentos, demonstrando perda de matéria orgânica no solo. A respiração basal e o quociente metabólico não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos. Porém nota aumento no estresse metabólico, demonstrando uma atividade biológica aumentada em função da maior quantidade de matéria orgânica disponível no solo (Tabela 5).

O desenvolvimento do milho (MSPL) nesta primeira safra não houve diferença significativa entre os tratamentos, com exceção do tratamento com *Bacillus firmus* que apresentou maior massa seca da planta (583,97), no entanto o ganho massa seca não refletiu na produtividade, que mesmo sendo estatisticamente igual com o tratamento com *Bacillus* sp. que apresentou a maior produtividade com 4022,76 Kg ha⁻¹, produziu menos 6 sacas ha⁻¹. Vale destacar que todos os tratamentos apresentaram incremento na produtividade superior a 10% quando comparado a Testemunha (Tabela 6.)

Tabela 5. Análise dos atributos microbiológicos do solo – Safra Milho 2022

TRAT	MO	C_BMS	qMIC	RBS	qCO ₂
	g Kg ⁻¹	mg C kg ⁻¹	(%)	mg C-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	RBS C_BMS ⁻¹
TEST	36,93 A	229,32 C	1,08 AB	0,35 A	1,51 A
Pira+ <i>B. firmus</i>	39,45 A	224,75 C	1,01 B	0,37 A	1,63 A
<i>B. firmus</i>	41,97 A	294,80 A	1,23 A	0,45 A	1,49 A
<i>A. brasilense</i>	38,61 A	241,35 BC	1,10 AB	0,39 A	1,61 A
<i>Bacillus</i> sp.	39,45 A	256,22 B	1,14 AB	0,40 A	1,55 A
C.V (%)	6,04	4,30	6,98	18,90	19,04

Dados: (MO) = Matéria Orgânica; (C_BMS) = Carbono da Biomassa Microbiana; (qMIC) = Quociente Microbiano; (RBS) = Respiração Basal do Solo; (qCO₂) = Quociente Metabólico do Solo. [T] = Testemunha; [BAS 373] = TS químico. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não difere pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Massa seca da planta milho e a produtividade (kg ha⁻¹) e porcentagem de incremento. – Safra Milho 2022

TRAT	MSPL	PROD.	SACAS	INCR.
	g	Kg ha ⁻¹	ha ⁻¹	%
TEST	462,39 B	3194,88 C	53,25	
Pira+ <i>B. firmus</i>	443,06 B	3685,24 AB	61,42	15,35
<i>B. firmus</i>	583,97 A	3811,46 AB	63,52	19,30
<i>A. brasilense</i>	469,52 B	3527,71 BC	58,80	10,42
<i>Bacillus</i> sp.	425,03 B	4022,76 A	67,05	25,91
C.V (%)	7,10	5,29	-	-

Dados: [TEST] = Testemunha; [Pira+ *B. firmus*] = TS químico + Biológico; [MSPL] = Massa Seca de Planta; [PROD] = Produtividade (kg ha⁻¹); [INCR] = Porcentagem de incremento na produtividade. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não difere pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Na cultura da soja, a análise dos atributos microbiológicos, demonstraram que todos tratamentos apresentou maior população de microrganismos comparado a Testemunha, com destaque no tratamento com *Azospirillum brasilense* que apresentou uma população maior entre todos. Este fato leva também ao maior quociente microbiano (qMIC), próximo ao equilíbrio (1,8%) desejado da razão do C_BMS e Carbono Orgânico Total (COT), que demonstra a eficiência na decomposição e mineralização da matéria orgânica pelos microrganismos. Isso refletiu no aumento da respiração basal e consequentemente no quociente metabólico, demonstrando atividade biológica aumentada (Tabela 7).

A maior população da comunidade microbiana e maior atividade biológica no tratamento com *Azospirillum brasilense*, refletiu na maior produtividade (4553,54 kg ha⁻¹) da soja, com incremento de 8 sacas ha⁻¹, ou seja 13,11% maior a testemunha (Tabela 8). Os tratamentos com *Bacillus firmus* e *Bacillus* sp. também apresentaram ganho em produtividade de 4,80% e 8,15% respectivamente.

A planta da soja é muito exigente em nitrogênio (N), pois este nutriente é responsável pelo aumento do teor de proteína do grão (36 a 42%), produção de novas células e tecidos e produtividade dos grãos (MARCON, et al., 2017). Estima-se que para cada tonelada de grão produzida sejam necessários aproximadamente 83 kg de N (HUNGRIA; NOGUEIRA;

ARAÚJO, 2013).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN), promovida por bactérias do gênero, pode suprir a exigência nutricional da soja em nitrogênio. Os avanços tecnológicos têm permitido que a cultura expresse seu potencial mesmo sendo influenciada pelas condições edafoclimáticas (CAMPO; ARAÚJO; HUNGRIA, 2009; ZILLI et al., 2009). Segundo Hungria; Nogueira; Araújo (2013), o manejo da coinoculação pode proporcionar um aumento médio de 16,1% na produtividade da soja, em relação às áreas não inoculadas, isso corrobora com nosso trabalho que obteve um ganho de 13% (Tabela 8).

Bactérias pertencentes ao gênero *Azospirillum*, utilizadas mundialmente como inoculantes em gramíneas (HUNGRIA et al., 2010), são consideradas organismos promotores de crescimento, capazes de influenciar a formação de fitohormônios. Desta forma, estes microrganismos permitem antecipar a nodulação do *Bradyrhizobium*, promover elevado crescimento da parte aérea e das raízes, aumentar a capacidade de absorção de água e nutrientes, devido ao aumento do volume de solo explorado, proporcionar oportunidades para a indução de resistência sistêmica a doenças e estresses ambientais, e também a capacidade de solubilizar fosfato (BRACCINI et al., 2016), o que pode elevar a lucratividade, diminuir ou até anular investimentos em fertilizantes químicos nitrogenados (NOGUEIRA, et al., 2018).

Dentre as bactérias fixadoras de N por associação, as do gênero *Azospirillum* são as mais bem caracterizadas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, relacionadas ao aumento de assimilação de N e na atividade de enzimas fotossintéticas nas plantas por ela colonizadas (CASSÁN; DIAZ-ZORITA, 2016).

Além do N₂ fixado do ar atmosférico, as bactérias do gênero *Azospirillum* também auxiliam na produção de hormônios que potencializam os processos metabólicos realizados pelas plantas, como a produção de fotoassimilados para o crescimento e desenvolvimento (HUNGRIA, 2011; VITTO et al., 2022), aumento da disponibilidade e absorção de nutrientes (RAMASAMY et al., 2011; DHAWI; DATTA; RAMAKRISHNA, 2015), proporcionando maior altura de planta, massa fresca de parte aérea e raiz (COSTA; MELLONI, 2019).

Existe no mercado produtos comerciais contendo cepas de *Azospirillum brasilense* prontos para serem aplicadas por via foliar (BRASIL, 2020), no tratamento de sementes e sulco de plantio (KOPPERT, 2022). Contudo, as formas de aplicação nem sempre são realizadas como recomendado pelo fabricante, além disso, poucos são os estudos que apresentam o efeito do uso desses inoculantes para comunidade microbiana e sua atividade metabólica no solo.

Tabela 7. Análise dos atributos microbiológicos do solo – Safra Soja 2022/23.

TRAT	MO	C_BMS	qMIC	RBS	qCO ₂
	g Kg ⁻¹	mg C kg ⁻¹	(%)	mg C-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	RBS C_BMS ⁻¹
TEST	28,08 A	146,33 D	0,90 C	0,28 D	1,92 B
Pira+ <i>B. firmus</i>	29,15 A	188,27 AB	1,12 B	0,33 BC	1,75 C
<i>B. firmus</i>	28,14 A	181,53 C	1,11 B	0,35 B	1,93 B
<i>A. brasilense</i>	26,75 A	192,92 A	1,25 A	0,43 A	2,21 A
<i>Bacillus</i> sp.	27,30 A	183,96 BC	1,17 B	0,32 C	1,72 C
C.V (%)	4,87	1,64	3,16	3,38	3,88

Dados: (MO) = Matéria Orgânica; (C_BMS) = Carbono da Biomassa Microbiana; (qMIC) = Quociente Microbiano; (RBS) = Respiração Basal do Solo; (qCO₂) = Quociente Metabólico do Solo. [T] = Testemunha; [BAS 373] = TS químico. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não difere pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 8. Massa seca da planta soja e a produtividade (kg ha⁻¹) e porcentagem de incremento. Safra Soja 2022/2023

TRAT	MSPL	PROD.	SACAS	INCR.
	g	Kg ha ⁻¹	ha ⁻¹	%
TEST	109,59 B	4025,65 B	67,09	
Pira+ <i>B. firmus</i>	123,78 B	3994,55 B	66,58	-0,77
<i>B. firmus</i>	152,21 A	4218,74 AB	70,31	4,80
<i>A. brasilense</i>	124,21 B	4553,54 A	75,89	13,11
<i>Bacillus</i> sp.	128,77 B	4353,78 AB	72,56	8,15
C.V (%)	7,60	4,10	-	-

Dados: [TEST] = Testemunha; [Pira+ *B. firmus*] = TS químico + Biológico; [MSPL] = Massa Seca de Planta; [PROD] = Produtividade (kg ha⁻¹); [INCR] = Porcentagem de incremento na produtividade. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não difere pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Na safra de milho 2023, observamos uma queda acentuada na matéria orgânica do solo quando comparada às safras anteriores, tal fato pode ter refletido também na população de microrganismo no solo (C_BMS), onde a testemunha teve a menor população de 35,93 mg C kg⁻¹ de solo, ineficiência na decomposição e mineralização da matéria orgânica, demonstrado pelo quociente microbiano (qMIC) de 0,35%. Fato demonstra a perda de matéria orgânica no solo, ou seja, não há atividade biológica para disponibilizar nutriente a planta (Tabela 9).

Os demais tratamentos, apresentaram índices de C_BMS e qMIC considerados bons, ou seja, uma população de microrganismos suficiente para atividade biológica. Os tratamentos com *Bacillus firmus* e *Bacillus* sp. apresentou aumento considerável na comunidade microbiana (198,41 e 435,17 respectivamente), e um aumento na taxa qMIC (2,16 e 4,37%), demonstrando que o Carbono está imobilizado no solo na forma orgânica, ou seja, na morte dos organismos do solo o carbono estará novamente disponível (Tabela 9).

A maior atividade microbiana do solo, refletiu na produtividade, sendo maior em todos os tratamentos quando comparados a Testemunha. Contudo vale destacar o tratamento de semente realizado com o *Bacillus* sp. com produtividade de 9.376 kg ha⁻¹, com ganho de mais de 56 sacas ha⁻¹, e incremento de 56,64% na produtividade (Tabela 10).

O mesmo resultado já tinha sido observado na safra 2022, com maior produtividade no tratamento com *Bacillus* sp.

Uma das características das espécies de *Bacillus* é serem promotoras de crescimento de plantas, também produzindo fito-hormônios que, durante o desenvolvimento das plantas, possibilitam estimular o crescimento (JUNIOR et al., 2022). *Bacillus* spp. contribuem para maior enraizamento, comprimento e também na biomassa da raiz, sendo que a inoculação desses microrganismos aumenta a absorção de alguns nutrientes, promovendo o crescimento (SAHARAN; NEHRA, 2011), além de formar um biofilme ao redor da raiz e proteger as plantas de patógenos, estabelecendo simbiose com outros microrganismos e induzindo o desenvolvimento radicular (ALTAF et al., 2017).

O fato da queda acentuada da comunidade microbiana do solo na Testemunha nesta safra 2023, demonstra a importância da manutenção e manejo adequado do solo. Fica evidente que os tratamentos que receberam sementes tratadas com microrganismos, deixam residual as safras subsequentes, melhorando e induzindo supressão dos efeitos ambientais.

A microbiota do solo é composta por numerosos microrganismos, como bactérias, fungos e actinomicetos que interagem em um ambiente em estado de equilíbrio. Dessa maneira, a diversidade microbiana e a funcionalidade do solo são importantes para a agricultura (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016), pois existem grupos funcionais microbianos importantes, que fazem interação com as raízes das plantas (TRIVEDI et al., 2019) e permitem que ela faça o molde do micro bioma em seu benefício. Assim, a planta se beneficia com a ação direta ou indireta dos microrganismos, selecionados com a sua necessidade. Os benefícios podem incluir a absorção de minerais e de nutrientes, a diminuição de organismos patogênicos e também o crescimento de plantas (MITTER; FREITAS; GERMIDA, 2020).

A biomassa microbiana do solo (BMS) pode ser afetada pelas práticas de manejo do solo. Em sistemas de manejo convencional, tem apresentado reduções acentuadas devido ao revolvimento do solo, que causa danos diretos aos microrganismos expondo-os à variações de temperatura e umidade. Em sistemas considerados conservacionistas, como o plantio direto, existe uma mecanização que com o tempo pode levar à compactação do solo (CALONEGO et al., 2017). Dessa maneira, alterações nas comunidades de microrganismos e sua atividade afetam diretamente os processos biológicos e bioquímicos do solo, a atividade agrícola e, conseqüentemente, a sustentabilidade dos agroecossistemas. (GAZOLLA et al., 2015; FERREIRA et al., 2017; MERCANTE et al., 2008).

Tabela 9. Análise dos atributos microbiológicos do solo – Safra Milho 2023.

TRAT	MO	C_BMS	qMIC	RBS	qCO ₂
	g Kg ⁻¹	mg C kg ⁻¹	(%)	mg C-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	RBS C_BMS ⁻¹
TEST	18,13 A	35,93 D	0,35 D	0,08 D	2,13 A
Pira+ <i>B. firmus</i>	17,79 A	146,37 C	1,45 C	0,28 C	2,08 A
<i>B. firmus</i>	15,95 B	198,41 B	2,16 B	0,34 B	2,15 A
<i>A. brasilense</i>	15,78 B	131,84 C	1,46 C	0,29 C	2,34 A
<i>Bacillus</i> sp.	17,29AB	435,17 A	4,37 A	0,53 A	1,22 A
C.V (%)	4,95	5,18	6,40	7,46	12,12

Dados: (MO) = Matéria Orgânica; (C_BMS) = Carbono da Biomassa Microbiana; (qMIC) = Quociente Microbiano; (RBS) = Respiração Basal do Solo; (qCO₂) = Quociente Metabólico do Solo. [T] = Testemunha; [BAS 373] = TS químico. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não difere pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 10. Massa seca da planta milho e a produtividade (kg ha⁻¹) e porcentagem de incremento – Safra Milho 2023

TRAT	MSPL	PROD.	SACAS	INCR.
	g	Kg ha ⁻¹	ha ⁻¹	%
TEST	630,00 A	5985,91 C	99,77	
Pira+ <i>B. firmus</i>	602,50 A	8168,62 B	136,14	36,46
<i>B. firmus</i>	600,00 A	7864,42 B	131,07	31,38
<i>A. brasilense</i>	605,00 A	7396,40 B	123,27	23,56
<i>Bacillus</i> sp.	515,00 B	9376,55 A	156,28	56,64
C.V (%)	6,56	5,47	-	-

Dados: [TEST] = Testemunha; [Pira+ *B. firmus*] = TS químico + Biológico; [MSPL] = Massa Seca de Planta; [PROD] = Produtividade (kg ha⁻¹); [INCR] = Porcentagem de incremento na produtividade. Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não difere pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Juliatti et al. (2007) verificou que na cultura do milho o uso de piraclostrobina + epoxiconazole proporcionou incrementos na qualidade dos grãos, sendo este considerado como um dos benefícios adicionais do fungicida.

Tem sido demonstrado que alguns fungicidas, notadamente aqueles pertencentes ao grupo das estrobilurinas, apresentam efeitos que vão além do controle de doenças, denominados efeitos fisiológicos. Segundo Costa et al. (2009) dentre esses efeitos, estão maior resistência a vários tipos de estresses como seca e nutricional, aumento da capacidade fotossintética, redução da respiração foliar e maior eficiência do uso de água. Contudo estes efeitos ainda são pouco esclarecidos para a cultura do milho.

Existe no mercado produtos comerciais a base de *B. firmus* no Brasil, Estados Unidos e Europa com objetivo de controle de nematoides, mas este presente estudo também busca demonstrar os seus efeitos em melhorias nos aspectos microbiológicos do solo, o que este estudo demonstra com os resultados demonstrados nas tabelas 5, 7 e 9. Ganhos de produtividades observados na tabela 6 demonstram que o *B. firmus* solo teve incremento de 19,3% e o *B. firmus* em combinação com Piraclostrobina, (Pira+ *B. firmus*) teve incremento de 15,35% e Tabela 10, demonstram que o *B. firmus* solo teve incremento de 31, 38% e o *B. firmus* em combinação com

Piraclostrobina, (Pira+ *B. firmus*) teve incremento de 36,46% em comparação a testemunha, o que nos deixa a análise que *B. firmus* possui compatibilidade e sinergia com Piraclostrobina, uma vez que a dose de *B. firmus* na combinação com a Piraclostrobina é de 45% menor que a dose de *B. firmus* solo.

No Carbono da massa Microbiana, não observamos a sinergia do *B. firmus* com Piraclostrobina (146, 37) que foi observada nos ganhos de produtividade, nos leva a direcionar a influencia do *B. firmus* (148,91) nas melhorias do solo (Tabela 10).

6. CONCLUSÃO

O uso contínuo de produtos a base de *B. firmus* + Piraclostrobina, *B. firmus*, *A. brasilense* e do *Bacillus* sp. auxiliam na melhoria na manutenção da comunidade microbiana do solo e proporcionam ganhos na produtividade das culturas do milho e da soja.

Na cultura do milho o uso de *Bacillus* sp. apresentou aumento na população microbiana do solo, melhora na atividade biológica e um ganho considerável na produtividade.

Pela necessidade fisiológica da soja por N, a co-inoculação de *Azospirillum brasilense* beneficiou e teve os melhores parâmetros microbiológico do solo e conseqüentemente maior aumento na produtividade da soja.

Os *Bacillus* sp, e *B. firmus*, demonstraram maiores ganhos de produtividade no cultivo do milho em relação ao cultivo da soja.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas análises efetuadas cada espécie de microrganismos tem ganhos maiores ou menores, dependendo do cultivo aplicado, demonstrando a maior afinidade dos microrganismos com hospedeiro (planta).

A aplicação de Microorganismos em Tratamento de Sementes atua na manutenção da Carbono na Biomassa Bacteriana do Solo – CBM em relação a tratamentos sem o uso de microorganismos.

Análises mais ciclos de cultivos, cinco ou seis safras consecutivas, podem nos permitir avaliar ganhos maiores de CBM e produtividade, ou seja, efeitos cumulativos.

A importância e os efeitos da diversidade microbiana do solo ainda precisam ser melhor estudados. Entender as interações dos diferentes microrganismos, cultivos, cobertura de

solo é um fator importante para conseguirmos comprovar a eficiência de produtos em Tratamento de Sementes e cada vez mais produzir alternativas sustentáveis para agricultura, disponibilizando bioinsumos e manejos adequados do solo. Efeitos estes que vão além do controle de Nematoides, Doenças e Pragas, mas sim efeitos de fisiologia de plantas e microbiologia do solo.

Continuar a avaliação da sinergia ou antagonismo entre produtos químicos e biológicos em sementes, uma vez que é necessário o uso da combinação entre ambos, para manejos de pragas, doenças e nematoides, além da necessidade de promover ganhos de produtividade através dos seus efeitos de promoção de crescimento e convivência mútua entre as diferentes ferramentas utilizadas na agricultura moderna.

8. REFERÊNCIAS

- ABD-ELGAWAD, M. M. M.; ASKARY, T. H. Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies. **Egyptian journal of biological pest control**, v. 28, n. 1, p. 1-24, 2018.
- AGROFIT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários – AGROFIT [online]**. MAPA; 2016. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acesso em: 09 de março de 2019.
- ALTAF, M. M.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. A.; GROHMANN. *Bacillus* biofilms and their role in plant health. **Biofilms in Plant and Soil Health**, p. 55-67, 2017.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. Application of Ecophysiological Quotients (qCO_2 and qD) on Microbial Biomass from Soils of Different Cropping Histories. **Soil Biology and Biochemistry**, v, 22, 251-255, 1990.
- APROSOJA BRASIL. **SOJA BRASILEIRA: HISTÓRIA E PERSPECTIVAS**. Associação Brasileira dos Produtores de Soja, 2020.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, v. 23, p. 66-75, 2007.
- BARBOSA, R. T.; MONTEIRO, R. R; COUTINHO, J. G.; SILVA, L.G. F.; *Pochonia chlamydosporia* no controle do nematoide de galhas em bananeira. **Nematropica**, v. 49, p. 99-106, 2019.
- BARCELLOS, J. O. J., LAMPERT, V. N.; GRUNDLING, R. D. P.; CANELLAS, L. C. **A empresa rural do século XXI no contexto do agronegócio brasileiro**, 2017. Disponível em:http://www.ufrgs.br/nespro/sysdownloads/arquivos/outros/A_EMP_RURAL_DO_SECULO_XXI.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2022.
- BASF. Stroby SC. Manual técnico. BASF, 2002.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G. Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 103-121, 1997.
- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; de-BASHAN, L. E. Azospirillum-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, p. 521-577, 2004.
- BASHAN, Y.; SINGH, M.; LEVANONY, H. Contribution of Azospirillum brasilense Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation. **Canadian Journal of Botany**, v. 67, p. 2429-2434, 1989.

BASU, S.; RABARA, R.; NEGI, S. Towards a better greener future - an alternative strategy using biofertilizers. I: Plant growth promoting bacteria. **Plant Gene**, Netherlands, v. 12, p. 43-49, 2017.

BATTISTI, R. **Épocas de semeadura da cultura da soja com base no risco climático e na rentabilidade líquida para as principais regiões produtoras do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Sistemas Agrícolas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013. 261 p.

BEUTLER, A.N.; CENTURION, J.F.; CENTURION, M.A.P.C. & SILVA, A.P. Efeito da compactação na produtividade de cultivares de soja em Latossolo Vermelho. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 30, p. 787-794, 2006.

BHATTACHARYYA, P. N.; JHA, D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v. 28, n. 4, p. 1327-1350, 2012.

BORTOLINI, A. M. M.; GHELLER, J. A. Aplicação de diferentes fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do milho em relação à produtividade. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 1, p. 109-121, 2012.

BRACCINI, A. L.; MARIUCCI, G. E. G.; KUZUKAWA, A. K.; LIMA, L. H. S. PICCININ, G. G. Soybean co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* e *Azospirillum brasilense* and nitrogen fertilization on plant nodulation and crop yield. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 1, p. 27-35, mar. 17, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Azos - Inoculante formulado com a bactéria *Azospirillum brasilense* Ab-V5**. Registro no MAPA MG 001648-9.000001. Titular do Registro Laboratório de Bio Controle Farroupilha Ltda / Grupo Lallemand), 2020a.

BRASIL. MME- Ministério de Minas e Energia. ANDRADE NETO, LIMA. J. **Biocombustíveis: a experiência brasileira e a visão do governo**, 2020.

BRYSON, R. J.; LEANDRO, L.; JONES, D. R. **The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implication for crop yield**. In: Proceedings of the righton Crop Protection Conference - Pests and Diseases, Farnham. Proceedings... Farnham: British Crop Protection Councilp. p. 739-747. 2000.

BURR, T. J.; CAESAR, A.; Beneficial plant bacteria. **Critical Reviews in Plant Sciences**, United Kingdom, v. 2, n. 1, p. 1-20, 1984.

CALONEGO, J. C.; RAPHAEL, J. P. A.; RIGON, J. P. G.; OLIVEIRA NETO, L.; ROSOLEM, C. A. Soil compaction management and soybean yields with cover crops under no-till and occasional chiseling. **European Journal of Agronomy**, v. 85, p. 31-37, 2017.

CAMPO, R. J.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M.A. Molybdenum-enriched soybean seeds enhance N accumulation, seed yield, and seed protein content in Brazil. **Field Crops Research**, v. 110, n. 3, p. 219-224. 2009.

CARVALHO, F.; COGO, F. D.; SILVA, J. S.; SANTOS, J. V.; BARBOSA, L. P.; CARVALHO, T. S.; RANGEL, W. M.; FARIA, T. P.; MOREIRA, F. M. S. **Conhecendo a vida do solo: Micro-organismos**. Lavras: UFLA, Universidade Federal de Lavras, 2017. 24 p.

CASSÁN, F.; DIAZ-ZORITA. *M. Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 103, p. 117-130, 2016.

CETINTAS, R.; KUSEK, M.; FATEH, S. A. Effect of some plant growth-promoting rhizobacteria strains on the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in tomato. **Jornal egípcio de controle biológico de pragas**, v. 28, n. 1, p. 1-5, 2018.

COELHO, J. D. **MILHO: PRODUÇÃO E MERCADO**. Disponível em https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/1333/1/2022_CDS_233.pdf. Acesso em 25 de agosto de 2022.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, DF. Safra de grãos 2023/2024 está estimada em 294,1 milhões de toneladas, 2024a.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, DF, v. 11, safra 2023/24, n. 7, 2024b.

COSTA, R. V. DA; CASELA, C. R.; COTA, L. V. **Cultivo do Milho**. In: Sistema de Produção 2. Embrapa Milho e Sorgo. Versão Eletrônica, 2009. ISSN 1679-012X. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/doencas.htm. Acesso em 26 de julho de 2009.

COSTA, S. M. L.; MELLONI, R. Relação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no crescimento de mudas de oliveira (*Olea europaea*). **Ciência Florestal**, v. 29, n. 1, p. 169-180, 2019.

CRUZ, J. C. S.; ROCHA, M. M.; CAMPOS JUNIOR, O. Saúde ambiental: microrganismos de solo e o controle de fitopatógenos. **O mundo da saúde**, São Paulo, v.29, n.2, p.252-257, 2005.

DAGIOS, R. F. **Avaliação da sobreposição na semeadura de milho (*Zea mays*) utilizando uma semeadora de precisão**. Dissertação apresentada a Universidade Federal de Santa Maria. Programa de Pós-Graduação em Agricultura de Precisão. Santa Maria - RS, 2018.

DARDANELLI, M. S. Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, p. 2713-2721, 2008.

DELMOND, J. G. **Desempenho de uma semeadora-adubadora de plantio direto na cultura do feijão**. 2009. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2009.

DHAWI, F.; DATTA, R.; RAMAKRISHNA, W. Mycorrhiza and PGPB modulate maize biomass, nutrient uptake and metabolic pathways in maize grown in mining-impacted soil. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 97, p. 390-399, 2015.

DÖBEREINER, J.; DAY, J. M. **Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites.** In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NITROGEN FIXATION. Proceedings. NEWTON, W.E. & NYMAN, C.J. (eds.), Washington State University Press, v. 1, p. 518-538, 1976.

EMBRAPA SOJA. **Exigências minerais e adubação.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/soja/producao/manejo-da-fertilidade-do-solo/exigencias-minerais-e-adubacao>, 2008. Acesso em janeiro de 2024.

EMBRAPA SOJA. **Soja em números (safra 2022/23)**, 2024.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Ed. Fábio Cesar da Silva. Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica, v. 3, n. 1, ed. 2, 2009.

FERNANDES-JÚNIOR, P. I. ; AIDR, S. T.; MORGANTE, C. V.; GAVA, C. A. T.; ZILLI, J. E.; SOUZA, L. S. B.; MARINHO, R. C. N.; NÓBREGA, R. S. A.; BRASIL, M. S.; SEIDO, S. L. MARTIN, L. M. V. The resurrection plant *Tripogon spicatus* (Poaceae) harbors a diversity of plant growth promoting bacteria in Northeastern Brazilian caatinga. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 39, p. 993-1002, 2015.

FERREIRA, C. R. P. C; ANTONINO, A. C. D; SAMPAIO, E. V. S. B; CORREIA, K. G; LIMA, J. R. S; SOARES, W.A; MENEZES, R.S. C. Soil CO₂ Efflux Measurements by Alkali Absorption and Infrared Gas Analyzer in the Brazilian Semiarid Region. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 42, 2018.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria** [S.l.]. v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERREIRA, E. P. B.; STONE, L. F.; MARTIN-DIDONET, C. C. G. População e atividade microbiana do solo em sistema agroecológico de produção. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n.1, p. 22-31, 2017.

FOSTER, E.J., HANSEN, N., WALLENSTEIN, M., COTRUFO, M.F. Biochar and manure amendments impact soil nutrients and microbial enzymatic activities in a semi-arid irrigated maize cropping system. **Agric Ecosyst Environ.** v. 233, p. 404–414, 2016.

GARCIA, J. E.; MARONICHE, G.; CREUS, C.; SUÁREZ-RODRÍGUEZ, R.; RAMIREZ-TRUJILLO, J. A.; GROPPA, M. D. In vitro PGPR properties and osmotic tolerance of different *Azospirillum* native strains and their effects on growth of maize under drought stress. **Microbiological Research**, Germany, v. 202, p. 21-29, 2017.

GAZOLLA, P.R.; GUARESCHI, R. F.; PEREIRA, A. P. M. G.; ROSSI, C. Q. Frações da matéria orgânica do solo sob pastagem, sistema plantio direto e integração lavoura pecuária. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 693-704, 2015.

GROPPA, M. D.; ZAWOZNIK, M. S.; TOMARO, M. L. Effect of co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* on soybean plants. **European Journal of Soil Biology**, v. 34, n. 2, p. 75-80, 1998.

HASSANI, M.; DURÁN, P.; HACQUARD, S. Microbial interactions within the plant holobiont. **Microbiome**, v. 6, n. 1, p. 1-17, 2018.

HENNING, A. A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. Londrina: EMBRAPA CNPSo, 2005. 52 p.

HENNING, A. A.; KRZYŻANOWSKI, F. C. J.; FRANCA NETO, J. B. J.; YORINORI, J. T. J. **Tratamento de sementes de soja com fungicida**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1991. 4 p.

HUERGO, L. F.; MONTEIRO, R. A.; BONATTO, A. C.; RIGO, L. U.; STEFFENS, M. B. R.; CRUZ, L. M.; CHUBATSU, L. S.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. **Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense***. In: CASSÁN, F. D.; SALAMONE, I. G. (Eds.). *Azospirillum* sp.: cell physiology, plant interactions, and agronomic research in Argentina. Argentina: Asociación Argentina de Microbiología, 2008. p. 17-36.

HUNGRIA, M.; CAMPOS, R. J.; MENDES, I. C. Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Embrapa Soja, Londrina, 2001. 48 p.

HUNGRIA, M.; CAMPOS, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant Soil**, v. 331, p. 413-425, jan. 2010.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 38 p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

HUNGRIA, M. NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with *rhizobia* and *azospirilla*: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility Soils**, v. 49, p. 791-801, Jan. 2013.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. **Tecnologias de inoculação da cultura da soja: mitos, verdades e desafios**. In: KAPPES, C. (Ed.). Boletim de Pesquisa 2019/2020. Rondonópolis: Fundação MT, 2019. p. 50-62. (Fundação MT. Boletim, 19).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE, Estatística da Produção Agrícola janeiro de 2024. 2024.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. M. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. M. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1981. v. 5, p. 415-471.

JULIATTI, F. C.; ZUZA, J. L. M. F.; de SOUZA, P. P.; POLIZEL, A. C. Efeito do genótipo de milho e da aplicação foliar de fungicidas na incidência de grãos ardidos. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, 2007.

JUNIOR, A. F. C.; JUNIOR, G. M. B. J. B.; LIMA, C. A. L.; MARTINS, A. L. L. M.; SOUZA, M. C. S.; CHAGAS, L. F. B. C. *Bacillus subtilis* como inoculante promotor de crescimento vegetal em soja. **Diversitas Journal**, v. 7, n. 1, p. 0001-0016, 2022.

KAMBLE, P. N.; BAATH, E. Carbon and nitrogen amendments lead to differential growth of bacterial and fungal communities in a high-ph soil. **Pedosphere**, v.8, n.2, p.255-260, 2018.

KENNEDY, I. R.; CHOUDHURY; A. T. M. A.; KECSKÉS, M.L. Nonsymbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better explored. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 8, p. 1229-1244, 2004.

KLOEPPER, J. W. **Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes**. In: CONFERENCE ON PLANT PATHOGENIC BACTERIA, STATION DE PATHOLOGIE VEGETALE ET PHYTOBACTERIOLOGIE, 4., 1978, Angers, France. Proceedings... France: INRA, p.879-882, 1978.

KOPPERT. **AZOTROP** Folder. 2022. Disponível em: <chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.instaagro.com/media/attachment/file/f/o/folder_azokop.pdf>. Acesso em: 24/06/2024.

LIMA, I. M.; BUONICONTRO, D.; ARPINI, B. D. S.; TEODORO, M.; COSTA, N. S. **Gerenciamento de nematoides no sistema de produção do cafeeiro 'Conilon'**. In: PARTELLI, F. L.; ESPINDULA, M. C. (org.). **Café Conilon: conhecimento para superar desafios**, 178p. Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CAUFES), Alegre, ES, Cap.4, p.61-74, 2019.

LOBO, C. B.; JUÁREZ TOMÁS, M. S.; VIRUEL, E.; FERRERO, M. A. Development of low-cost formulations of plant growth-promoting bacteria to be used as inoculants in beneficial agricultural technologies. **Microbiological Research**, [S.l.], v. 219, p. 12-25, 2019.

LOBO, R. F. D.; NOGUEIRA, L. C. A. Aplicação de inoculante via sulco na cultura de soja. 4ª edição, maio 2014. Disponível em: <http://fait.revista.inf.br/site/c/agronomia.html>. Acesso em 10 julho 2024.

LUZ, W. C. **Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção**. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M. et al. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: RAPP, 1996. p.1-49. v.4.

MARCON, E. C.; ROMIO, S. C.; MACCARI, V. M.; KLEIN, C.; LÁJUS, C. R. Uso de diferentes fontes de nitrogênio na cultura da soja. **Revista Thema**, v. 14, n. 2, p. 298-308, 2017.

MARKS, B. B. **Ação de metabólitos secundários e de inoculantes microbianos na promoção do crescimento de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e milho (*Zea mays* L.)**. Dissertação de mestrado em Microbiologia. Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2013.

MATSUNAGA, W. K; RODRIGUES, H. J. B; RODRIGUES, P. G. Atributos Microbiológicos de Solo, Relacionados as Atividades da Microfauna em Solo na Floresta Amazônica. **Anuário do Instituto de Geociências**, v. 41, n. 3, p. 630-638, 2018.

MELO, V.F; SILVA, D.T; EVALD, A; ROCHA, P.R.R. Chemical and biological quality of the soil in different systems of use in the savanna environment. **Revista Agr@. on-line**, v.11, n. 2, p. 101-110, 2017.

MENDES, I. D. C.; DE SOUSA, D. M. G.; DOS REIS JUNIOR, F. B.; LOPES, A. D. C. Bioanálise de solo: como acessar e interpretar a saúde do solo. **EMBRAPA CERRADOS-CIRCULAR TÉCNICA (INFOTECA-E)**, 2018.

MERCANTE, F. M.; SILVA, R. F.; FRANCELINO, C. S. F.; CAVALHEIRO, J. C. T.; OTSUBO, A. A. Biomassa microbiana, em um Argissolo Vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 34, n. 4, p. 479-485, 2008.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p.121-127, 2008.

MIALHE, L. G. Máquinas agrícolas para plantio. Campinas: Millennium, 2012. 623 f.

MITTER, E. K.; DE FREITAS, J. R.; GERMIDA, J. J. Hydrocarbon-degrading genes in root endophytic communities on oil sands reclamation covers. **International Journal of Phytoremediation**, v. 22, n. 7, p. 703-712, 2020.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**: 2. ed. Lavras: UFLA, 2006.

MUÑOZ-ROJAS, M. Soil quality indicators: critical tools in ecosystem restoration. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 5, p. 47-52, 2018.

NASSAL, D.; SPOHN, M.; ELTLBANY, N.; JACQUIOD, S.; SMALLA, K.; MARHAN, S.; KANDELER, E. Effects of phosphorus- mobilizing bacteria on tomato growth and soil microbial activity. **Plant and Soil**, v. 427, n. 1-2, p. 17-37, 2018.

NOGUEIRA, M. A.; PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; CONTE, O.; HARGER, N.; OLIVEIRA, F. T.; HUNGRIA, M. **Ações de transferência de tecnologia em inoculação/coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na cultura da soja na safra 2017/18 no estado do Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 16 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 143)

OKON, Y.; KAPULNIK, Y. Development and function of *Azospirillum*-Inoculated roots. **Plant and Soil**, v. 90, p. 3-16, 1986.

OLIVEIRA SILVA, M.; SANTOS, M. P.; PAZ SOUSA, A. C.; SILVA, R. L. V.; MOURA, I. A. A.; SILVA, R. S.; SILVA COSTA, K. D. Qualidade do solo: indicadores biológicos para um manejo sustentável. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 6853-6875, 2021.

OLIVEIRA SILVA, M.; VELOSO, C. L.; DO NASCIMENTO, D. L.; OLIVEIRA, J.; FREITAS PEREIRA, D.; SILVA COSTA, K. D. Indicadores químicos e físicos de qualidade do solo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 47838-47855, 2020.

OLIVEIRA, K. C. L. D.; MENESES, A. C. D.; SILVA, J. M.; TAVARES, R. L. C. Biological management of *Pratylenchus brachyurus* in soybean crops. **Revista Caatinga**, v. 32, p. 041-051, 2019.

ONU- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. População mundial atingiu 7,6 bilhões de habitantes, 2017. Disponível em:

<http://www.unmultimedia.org/radio/portuguese/2017/06/populacao-mundial-atingiu-76-bilhoesde-habitantes/#.WgclvWhSxPY>. Acesso em 20 de abril de 2024.

PAREDES, I.; OTERO, N.; SOLER, A.; GREEN, A. J.; SOTO, D. X. Agricultural and urban delivered nitrate pollution input to Mediterranean temporary freshwaters. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 294, p. 106859, 2020.

PATEL, J. K.; ARCHANA, G. Diverse culturable diazotrophic endophytic bacteria from Poaceae plants show cross-colonization and plant growth promotion in wheat. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 417, n. 1-2, p. 99-116, 2017.

PAULA, G. F.; DEMÉTRIO, G. B.; MATSUMOTO, L. S. Biotecnological potential of soybean plant growth-promoting rhizobacteria. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 34, n. 2, p. 328-338, abr.-jun., 2021.

PEREIRA, C. L., GARCIA, M. M., BRACCINI, A. L., PIANA, S. C., FERRI, G. C., MATERA, T. C., FELBER, P. H., MARTELI, D. C. V. Efeito da adição de biorregulador ao tratamento industrial sobre a qualidade de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) aos sessenta dias de armazenamento convencional. **Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales**. v. 3, nº 1, p. 15-22, nov. 2016.

PINTO, L. P.; PERUZZOLO, M. C.; HISTER, J. R. W. H.; FRIGO, E. P.; BARREIROS, M. A. B.; GRANGE. Alterações populacional e morfológicas da comunidade celulolítica de um solo sob aplicação de biofertilizante. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 8, n. 2, 2019.

PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; HUNGRIA, M.; OLIVEIRA, F. T.; HARGER, N. **Transferência de tecnologia sobre inoculação em soja em parceria entre Embrapa e Emater**. In: REUNIÃO LATINOAMERICANA DE RIZOBIOLOGIA - RELAR, 27., 2016, Londrina. Fortalecendo as parcerias Sul-Sul: anais. Curitiba: SBCS-NEPAR, 2016. p. 308.

RAIESI, F.; SALEK-GILANI, S. The potential activity of soil extracellular enzymes as an indicator for ecological restoration of rangeland soils after agricultural abandonment. **Applied Soil Ecology**, v. 126, p. 140-147, 2018.

RAMAKRISHNA, W.; YADAV, R.; LI, K. Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. **Applied Soil Ecology**, [S.l.], v. 138, p. 10-18, 2019.

RAMASAMY, K.; JOE, M. M.; KIM, K.; LEE, S.; SHAGOL, C.; RANGASAMY, A.; , CHUNG, J.; ISLAM, R.; SA, T. Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production. **Korean Journal of Soil Science and Fertilizer**, v. 44, n. 4, p. 637-649, 2011.

RODRIGUES, E. P.; RODRIGUES, L. S.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V. L. D.; TEIXEIRA, K. R. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. *Azospirillum amazonense* inoculation: effects on growth, yield and N₂ fixation of rice (*Oriza sativa* L.). **Plant Soil**, v. 302, p. 249-261, 2008.

SAATH, K. C. O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195-212, 2018.

SAHARAN, B. S.; NEHRA, V. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A critical review. **International Journal of Life Science and Medical Research**, v. 21, p. 1-30, 2011.

SANTOS, W. P.; FIORELLI, E. C.; MACHADO, C. B.; SIQUEIRA, M. G.; VIEIRA, A. S.; DE SOUZA, S. P.; MENDES, R. F.; BRAVIN, N. P. Atividade microbiana sob o sistema de preparo do solo. **Agricultura em foco**, 2020. p. 2.

SAUBIDET, M. I.; FATTA, N.; BARNEIX, A. J. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil**, v. 245, p. 215-222, 2002.

SCHIRAWSKI, J.; PERLIN, M. H. Plant–Microbe Interaction 2017—The Good, the Bad and the Diverse. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.l.], v. 19, n. 5, 2018.

SCHOENBORN, L.; YATES, P. S.; GRINTON, B. E.; HUGENHOLTZ, P.; JANSSEN, P.H. Liquid serial dilution is inferior to solid media for isolation of cultures representative of the phylumlevel diversity of soil bacteria. **Appl Environ Microbiol**, [S.l.],v. 70, n. 7, p. 4363-4366, 2004.

SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. de C. (Ed.). **Tecnologias de produção de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 347 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 17).

SILVA, P. S. L. Desfolha e supressão da frutificação em milho. **Revista Ceres**, v.48. p.55-70, 2001.

SOBUCKI, L.; RAMOS, R. F.; BELLÉ, C.; ANTONIOLLI, Z. I. Manejo e qualidade biológica do solo: uma análise. **Revista Agronomia Brasileira**, v. 3, n. 4, 2019.

SOUZA, A. A.; BRUNO, R. L. A.; ARAÚJO, E.; BRUNO, G. B. Micoflora e qualidade fisiológica de sementes do algodoeiro tratadas com fungicidas químicos e extrato de aroeira. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, p.56-64, 2003.

STEENDHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 24, p. 487-506, 2000.

TORTORA, G.J.; CASE, C.L.; FUNKE, B.R. **Microbiologia-12ª Edição**. 2016 Artmed Editora, 2016.

TRIVEDI, C.; DELGADO-BAQUERIZO, M.; HAMONTS, K.; LAI, K.; REICH, P. B.; SINGH, B. K. Losses in microbial functional diversity reduce the rate of key soil processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 135, p. 267-274, 2019.

UHART, S. A.; ANDRADE, F. H. Nitrogen and carbon accumulation and remobilization during grain filling in maize under different source and sink ratios. **Crop Science**, v. 35, p. 183-190, 1995.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology & Biochemistry**, p. 703-707, 1987.

VERMA, P.P.; SHELAKE, R.M.; DAS, S.; SHARMA, P. E.; KIM, J.Y. Plant growth - promoter rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF): potential agents for biological control of diseases and pests. **Intervenções Microbianas na Agricultura e Meio Ambiente**, p. 281-311, 2019.

VITTO, D. C.; GUIMARÃES, V. F.; OLIVEIRA, P. S. R.; CECATTO JUNIOR, R.; SILVA, A. S. L.; HOSCHEID, A. R. S. Produção e produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* fertilizado com cama de frango. **Nativa**, v. 10, n. 4, p. 477-485, 2022.

WARDLE, D. A. **Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo**. In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (Ed.). Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1994. p. 419-436. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 46.

XIA, Y.; ZHANG, M.; TSANG, D. C. W.; GENG, N.; LU, D.; ZHU L.; IGALAVITHANA, A. D.; DISSANAYAKE, P. D.; RINKLEBE, J.; YANG, X.; OK, Y. S. Recent advances in control technologies for non-point source pollution with nitrogen and phosphorous from agricultural runoff: current practices and future prospects. **Applied Biological Chemistry**, Korea, v. 63, n. 8, 2020.

ZAIDI, A.; MOHAMMAD, S. Co-inoculation effects of phosphate solubilizing microorganisms and *Glomus fasciculatum* on green gram-*Bradyrhizobium symbiosis*. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.30, p.223-230, 2006.

ZILLI, J. E.; RIBEIRO, K. G.; CAMPO, R. J. HUNGRIA, M. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v. 33, n.4, p. 917-923, aug. 2009.