

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de
17/12/2026

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until
December 17, 2026

LUSIANE DE SOUSA FERREIRA

**ATIVIDADE DE *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 SOBRE A
SOLUBILIZAÇÃO DE FONTES DE FÓSFORO E EFEITOS NO
DESENVOLVIMENTO E COMPONENTES DE PRODUÇÃO DO MILHO**

Botucatu

2025

LUSIANE DE SOUSA FERREIRA

**ATIVIDADE DE *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 SOBRE A
SOLUBILIZAÇÃO DE FONTES DE FÓSFORO E EFEITOS NO
DESENVOLVIMENTO E COMPONENTES DE PRODUÇÃO DO MILHO**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Agronomia - Agricultura.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Almeida
Silva

Botucatu

2025

F383a Ferreira, Lusiane de Sousa

Atividade de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 sobre a solubilização de fontes de fósforo e efeitos no desenvolvimento e componentes de produção do milho / Lusiane de Sousa Ferreira. -- Botucatu, 2025

149 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu

Orientador: Marcelo de Almeida Silva

1. Zea mays L. 2. Fósforo (P). 3. *Bacillus* spp.. 4. Saúde do solo. 5. Sustentabilidade. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

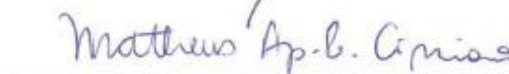
Título:

ATIVIDADE DE *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 SOBRE A SOLUBILIZAÇÃO DE FONTES DE FÓSFORO E EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO E COMPONENTES DE PRODUÇÃO DO MILHO

AUTORA: LUSIANE DE SOUSA FERREIRA

ORIENTADOR: MARCELO DE ALMEIDA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Agricultura), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARCELO DE ALMEIDA SILVA (Participação Presencial)
Produção Vegetal / UNESP / Câmpus de Botucatu - FCAPesquisadora Dr.^a JOSIANE BARROS CHIARAMONTE (Participação Virtual)
Pesquisa e Desenvolvimento - Bioprospecção / Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A.Prof. Dr. GUSTAVO FERREIRA DA SILVA (Participação Presencial)
Biotecnologia e Produção Vegetal e Animal / Universidade Federal de São CarlosProf. Dr. JULIANO CARLOS CALONEGO (Participação Presencial)
Produção Vegetal / UNESP / Câmpus de Botucatu - FCAProf. Dr. MATHEUS APARECIDO PEREIRA CIPRIANO (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / UNESP / Câmpus de Botucatu - FCA

Botucatu, 17 de dezembro de 2025.

Aos meus amados e respeitados pais, Luzia Ferreira
e Nézio Costa (*in memoriam*).

Ao meu tio Cosme (*in memoriam*).

A Lusiane, uma vez criança.

Aos meus filhos (as), que terão uma grandiosa MÃE,
pois, sou uma grandiosa FILHA!

dedico

AGRADECIMENTO

A Deus, porque Tudo é Dele, por Ele e para Ele, são todas as coisas (Romanos 11:36). À minha família, por ser minha base, que nem há adjetivos que possam ser combinados para mensurar o quão sou grata e feliz pela proeza de tê-los em minha vida. E aqui abro um parêntese para uma breve história, registrar de onde venho, o que fez com que eu esteja onde estou, e para onde pretendo ir. Sou a sétima filha de um casal de trabalhadores rurais [meu pai (*in memoriam*) tirava o sustento da família com o trabalho na roça, e minha mãe, com a força das mãos, quebrava coco babaçu], analfabetos, do interior do Maranhão. Ciente disto, estar e alcançar tudo isso, é de uma grandiosidade que nem há palavras para combinar e expressar, só sentir, gratidão.

À minha MãeZona, Luzia de Sousa Ferreira, por tanto. Sem a senhora, nada disso seria possível e não seria tão valioso. Obrigada por ser exatamente como é, e ter a oportunidade de ser sua filha, uma mulher com uma conduta ilibada. Serei eternamente grata por ser meu combustível diário. Por me ensinar a ter essência, princípios e valores, imensuráveis. Obrigada por me ensinar que para saber aonde vou e quero chegar, devo sempre me lembrar de onde saí e onde estou. Me perdoe por não ver de perto seus cabelos ficarem mais prateados. Como te falo todos os dias antes de sair e pedir sua benção, tudo isso é por ti e para ti, minha vida. Minha respiração e alimento de alma. A Lusi, menina alegre, firme e forte foi criada pela dona Luzia.

Ao meu Pai Nézio (*in memoriam*) pela base em princípios e valores, obrigada, pelo alicerce da vida.

À minha irmã, Lusimar, você é esplêndida. Meus irmãos, Hermesson, Salatiel, Magno e Sebastião, pelo apoio, amor e segurar as pontas na minha ausência. Minhas cunhadas, Renata, Andreia, França e Raiane, meus sinceros agradecimentos a vocês. Aos meus amados sobrinhos [Ana Júlia (*in memoriam*), Ana Júlia II, Júlio, Inácio, Helena, Raquel, Francisco e Fabiana], que são minha alegria de viver.

Ao meu grande e eterno amigo Dr. Deucleiton, responsável pela minha escolha em vir para Botucatu > UNESP / FCA / Departamento de Produção Vegetal - Agricultura. Sem a sua amizade e insistência no meu crescimento seja pessoal ou profissional, tudo isso, não estaria sendo possível. Muito obrigada, por tudo! Aqui, de fato, faço menção a clássica frase “Da graduação para a Vida”! Você é especial!

Às meninas da minha segunda casa/república, obrigada pelo companheirismo e parceria de sempre, vocês são excepcionais Fernanda, Tatiane, Gisele e Lainara. Obrigada pelos momentos compartilhados, de alegria e tristeza.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/Faculdade de Ciências Agrônômicas em nome dos setores e servidores que direta e indiretamente me acolheram.

Ao Departamento de Produção Vegetal “Agricultura” por ser minha terceira casa. A todos do meu grupo de pesquisa, LECA, em nome do meu orientador Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva. Sou e serei eternamente grata pelos ensinamentos, conhecimentos técnicos-científicos, oportunidades e suporte ao longo dessa difícil e árdua caminhada, o senhor é essencial! Melina, Gustavo, Hariane, Karol, Henrique, Laura, Victor (Kalango), Mirele, Fabrício, João e July, gratidão eterna, vocês foram essenciais no meu processo de formação. Aqui faço jus ao Provérbio africano que diz “Se quer ir rápido, vá sozinho, mas se quer ir longe, vá em grupo.” Muito obrigada, professor!

Com grandes Pesquisadores pude dividir os mesmos metros quadrados e aqui também faço menção ao Seu Cirinho, Iara, Eliane, Dona Adelina, Talita e Seu Jair, pelo auxílio e carinho nesses quatro anos, sempre com muita alegria e disposição.

Aos pesquisadores da salinha (Laudelino, Ericka, Matheus, João, Marcela, Lucas e Josi). Obrigada pela parceria e por tantos momentos alegres de diversão, vocês são espetaculares!

Aos meus professores desde o ensino infantil, fundamental, médio/técnico, graduação, mestrado e aos do doutorado, que contribuíram direta ou indiretamente com a minha formação, meus sinceros agradecimentos e aqui registro com a frase:

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre os ombros de gigantes” (Isaac Newton).

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Vittia. Agradeço também à Brevant Sementes, à Mineração Morro Verde Ltda. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos, de coração, minha eterna GRATIDÃO!

“É justo que muito custe o que muito vale”.
(Santa Tereza d’Ávila)

RESUMO

A utilização de bioinsumos à base de *Bacillus* spp. combinados a fertilizantes minerais é uma alternativa sustentável por aumentar a eficiência no uso de nutrientes e a saúde do solo, reduzir impactos ambientais e favorecer a produtividade agrícola. Apesar dos avanços, ainda há lacunas quanto à compreensão integrada dos efeitos do *Ba* BV03 associado a diferentes fontes de fósforo no sistema solo-planta. A nossa hipótese é que a inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba* BV03) promove a solubilização e mineralização com consequente aproveitamento do P no solo, potencializando a eficiência agrônômica de fontes de fósforo de baixa solubilidade, resultando em: (1) crescimento e desenvolvimento radicular, melhoria de indicadores microbiológicos e, fertilidade do solo; (2) respostas na biometria, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos fotossintéticos, biomassa vegetal, diagnose nutricional, componentes de produção e produtividade do milho. Assim, o nosso objetivo geral é avaliar os efeitos da interação de *B. amyloliquefaciens* BV03 com fontes de diferentes solubilidades de fósforo sobre o crescimento e o desenvolvimento radicular e da parte aérea, os indicadores microbiológicos e a fertilidade do solo, a fisiologia, a diagnose nutricional e a produtividade do milho. Em 2021/22 e 2022/23, foram conduzidos dois experimentos com milho em casa de vegetação localizada na Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, SP, Brasil. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 (sem e com *B. amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) x 4 [controle (sem P), superfosfato triplo (SFT), fosfato natural de Bayóvar (FNB) e fosfato natural de Pratápolis (FNP)]. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste *F*, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). No capítulo um, a pergunta que orienta este estudo é: em que medida a inoculação com *Ba* BV03, combinada a fontes de P com diferentes dinâmicas de liberação, altera atributos químicos e biológicos do solo e se reflete em mudanças no sistema radicular e no desempenho agrônômico do milho? A hipótese é que a inoculação com *Ba* BV03, quando combinada a fontes de P de liberação gradual, promove melhoria dos indicadores de saúde do solo, aumento da atividade enzimática e estímulo ao crescimento e ramificação do sistema radicular e componentes de produção. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar atributos químicos e biológicos do solo, assim como o desenvolvimento radicular e componentes de produção de plantas de milho sob a atividade de *Ba* BV03 e fontes de fósforo. Antes da instalação dos experimentos e na maturidade fisiológica (R6), a partir da coleta do solo foram avaliados: respiração basal do solo, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana do solo, arilsulfatase, β -glicosidase e fosfatase ácida, urease, desidrogenase e diacetato de fluoresceína, comprimento radicular, diâmetro, área projetada e superficial e volume de raízes e a partir da análise química de solo extraiu-se os teores de matéria orgânica do solo (MOS), teores de fósforo (P) e de enxofre (S). A inoculação com *B. amyloliquefaciens* BV03, associada ao manejo de fontes fosfatadas, promove alterações positivas e consistentes na dinâmica biológica de solos tropicais. A principal contribuição deste estudo reside na demonstração de que o uso do bioinsumo atua como um modulador da saúde do solo, evidenciado pelo aumento da atividade de enzimas-chave (β -glicosidase, desidrogenase e urease) e pela melhoria na eficiência do uso do carbono pela biomassa microbiana. Embora as respostas variem em magnitude entre os ciclos de cultivo devido às condições ambientais, a sinergia entre o *Ba* BV03 e fontes de fósforo de alta e média solubilidade (SFT e FNB) resultou em um sistema radicular mais exploratório e em componentes de produção superiores. No capítulo dois, hipotetizamos que *B. amyloliquefaciens* BV03 melhora a solubilização de P e a disponibilidade das plantas, embora seu efeito

dependa da solubilidade da fonte de P, que pode influenciar o desenvolvimento do milho. Portanto, nesse experimento, o objetivo foi avaliar os efeitos do *B. amyloliquefaciens* BV03 aplicado na semeadura, em associação com fontes de fósforo de solubilidade variável, no desenvolvimento do milho, fisiologia, bioquímica, biomassa, nutrição e produtividade. A inoculação de sementes de milho com *Ba* BV03, isoladamente ou combinada com fontes de fósforo (P), apresentou respostas variáveis de acordo com a fonte utilizada e com a safra. *Ba* BV03, *Ba* BV03+SFT e *Ba* BV03+FNB promoveram ganhos na biometria (altura, diâmetro e área foliar), fisiologia (F_v'/F_m' , $\phi PSII$, ETR, E , g_s , EUA), bioquímica (Chl *a*, *b* e carotenoides), biomassa (MSPA e MSR), nutrição (N, P, K, Ca e Mg) e produtivos. Os resultados demonstram que *B. amyloliquefaciens* BV03 modula o desempenho fisiológico, nutricional e produtivo do milho, sendo que as combinações com SFT e FNB apresentaram a maior sinergia entre o inoculante e a fonte de P. Portanto, a inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 configura-se como uma estratégia promissora e sustentável para aumentar a eficiência de uso do fósforo e promover o crescimento equilibrado da cultura do milho. Esses achados confirmam que a integração de microrganismos promotores de crescimento vegetal com fertilizantes minerais é uma estratégia eficaz para mitigar as limitações de P em solos tropicais, favorecendo a diversidade funcional e a sustentabilidade do sistema solo-planta.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; adubação fosfatada; bioinsumos; *Bacillus* spp.; saúde do solo; produtividade; sustentabilidade.

ABSTRACT

The use of bioinputs based on *Bacillus* spp. combined with mineral fertilizers is a sustainable alternative, as it increases nutrient use efficiency and soil health, reduces environmental impacts, and enhances agricultural productivity. Despite advances, there are still gaps in the integrated understanding of the effects of *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba* BV03) associated with different phosphorus sources in the soil–plant system. Our hypothesis is that inoculation with *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba* BV03) promotes solubilization and mineralization, resulting in improved phosphorus (P) uptake from the soil and enhancing the agronomic efficiency of low-solubility phosphorus sources. This leads to: (1) improved root growth and development, enhanced microbiological indicators, and soil fertility; and (2) responses in plant biometry, gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, photosynthetic pigments, plant biomass, nutritional status, yield components, and maize productivity. Thus, our overall objective is to evaluate the effects of the interaction between *B. amyloliquefaciens* BV03 and phosphorus sources with different solubility levels on root and shoot growth and development, soil microbiological indicators and fertility, plant physiology, nutritional diagnosis, and maize productivity. In the 2021/22 and 2022/23 growing seasons, two maize experiments were conducted in a greenhouse at the School of Agronomic Sciences, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, SP, Brazil. The experimental design was completely randomized in a 2 × 4 factorial scheme: 2 (without and with *B. amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*)) × 4 [control (no P), triple superphosphate (TSP), Bayóvar reactive phosphate rock (BRP), and Pratápolis phosphate rock (PRP)]. Data were subjected to analysis of variance using the F-test, and means were compared using Tukey's test ($p < 0.05$). In Chapter One, the guiding research question is: to what extent does inoculation with *Ba* BV03, combined with phosphorus sources exhibiting different release dynamics, alter soil chemical and biological attributes and reflect changes in the root system and agronomic performance of maize? The hypothesis is that inoculation with *Ba* BV03, when combined with gradually released P sources, improves soil health indicators, increases enzymatic activity, and stimulates root system growth, branching, and yield components. Accordingly, this study aimed to evaluate soil chemical and biological attributes, as well as root development and yield components of maize plants under the influence of *Ba* BV03 and phosphorus sources. Before experiment establishment and at physiological maturity (R6), soil samples were collected to evaluate: basal soil respiration; microbial biomass carbon and nitrogen; arylsulfatase, β -glucosidase, and acid phosphatase activities; urease, dehydrogenase, and fluorescein diacetate activity; root length, diameter, projected and surface area, and root volume. Soil chemical analysis determined soil organic matter (SOM), phosphorus (P), and sulfur (S) contents. Inoculation with *B. amyloliquefaciens* BV03, combined with the management of phosphate sources, promoted positive and consistent changes in the biological dynamics of tropical soils. The main contribution of this study lies in demonstrating that the bioinput acts as a soil health modulator, evidenced by increased activity of key enzymes (β -glucosidase, dehydrogenase, and urease) and improved carbon use efficiency by microbial biomass. Although responses varied in magnitude between growing seasons due to environmental conditions, the synergy between *Ba* BV03 and phosphorus sources of high and medium solubility (TSP and BRP) resulted in a more exploratory root system and superior yield components. In Chapter Two, we hypothesized that *B. amyloliquefaciens* BV03 enhances P solubilization and plant availability, although its effect depends on the solubility of the phosphorus source, which may influence maize development. Therefore, the objective of this experiment

was to evaluate the effects of *B. amyloliquefaciens* BV03 applied at sowing, in association with phosphorus sources of varying solubility, on maize development, physiology, biochemistry, biomass, nutrition, and productivity. Maize seed inoculation with *Ba* BV03, either alone or combined with phosphorus (P) sources, showed variable responses depending on the source used and the growing season. *Ba* BV03, *Ba* BV03 + TSP, and *Ba* BV03 + BRP promoted improvements in biometry (height, stem diameter, and leaf area), physiology (F_v'/F_m' , $\phi PSII$, ETR, transpiration rate (E), stomatal conductance (g_s), and water use efficiency (WUE)), biochemistry (chlorophyll *a*, *b*, and carotenoids), biomass (shoot and root dry matter), nutrition (N, P, K, Ca, and Mg), and yield. The results demonstrate that *B. amyloliquefaciens* BV03 modulates the physiological, nutritional, and productive performance of maize, with combinations involving TSP and BRP showing the greatest synergy between the inoculant and phosphorus source. Therefore, inoculation with *B. amyloliquefaciens* BV03 represents a promising and sustainable strategy to increase phosphorus use efficiency and promote balanced maize growth. These findings confirm that integrating plant growth-promoting microorganisms with mineral fertilizers is an effective strategy to mitigate phosphorus limitations in tropical soils, enhancing functional diversity and the sustainability of the soil–plant system.

Keywords: *Zea mays* L.; phosphorus fertilization; bioinputs; *Bacillus* spp.; soil health; productivity; sustainability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA E INDICADORES MICROBIOLÓGICOS EM SOLOS TROPICAIS: EFEITOS DO *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 E FONTES DE FÓSFORO NO DESENVOLVIMENTO DO MILHO

Figura 1 - Temperatura e umidade relativa mínima, média e máxima durante os períodos experimentais, safra 2021/2022 e 2022/2023.....	39
Figura 2 - Demonstração simplificada dos ensaios experimentais.....	41
Figura 3 - Demonstração do produto com o isolado <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BV03, semeadura, germinação e emergência e tratamentos com adubação fosfatada.....	43
Figura 4 - Esquema das análises microbiológicas e químicas do solo e morfologia radicular de plantas de milho, anos 2021 – 22 e 2022 – 23	44
Figura 5 - Determinação da umidade e retenção de água no solo.....	45
Figura 6 - Coleta, acondicionamento e preparo de amostras de solo para respiração basal e atividade enzimática do solo	45
Figura 7 - Procedimentos analíticos para determinação de nitrogênio e carbono da biomassa microbiana.....	47
Figura 8 - Preparo de extratos para quantificação da atividade das enzimas arilsulfatase, β -glicosidase e fosfatase ácida	49
Figura 9 - Amostras e extrato para determinação de atividade enzimática catalítica (intra e extracelular) pela hidrólise do diacetato de fluoresceína (FDA) ...	50
Figura 10 - Determinação da atividade enzimática da urease	51
Figura 11 - Lavagem de raízes e preparo de amostras para leitura e determinação do desenvolvimento radicular de plantas de milho	52
Figura 12 - Coleta e acondicionamento de amostras de solo para análises químicas	53

- Figura 13 - Respiração basal do solo (C-CO₂ µg C-CO₂ g⁻¹ solo seco) (a, b) cultivado com milho submetido a inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 e 2022/2023. Barras representam média ± erro-padrão (n = 4). Letras minúsculas comparam fontes (controle, SFT, FNB e FNP) dentro de cada nível de *Ba* (Tukey, $p \leq 0,05$) 55
- Figura 14 - Carbono (a, b) e nitrogênio (c, d) da biomassa microbiana do solo cultivado com milho submetido a inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 e 2022/2023. Barras representam média ± erro-padrão (n = 4). Letras minúsculas comparam fontes (controle, SFT, FNB e FNP) dentro de cada nível de *Ba* (Tukey, $p \leq 0,05$) 57
- Figura 15 - Quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) (a, b) de solo cultivado com plantas de milho em função da inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 e 2022/2023. Barras representam média ± erro-padrão (n = 4). Letras minúsculas comparam fontes (controle, SFT, FNB e FNP) dentro de cada nível de *Ba* (Tukey, $p \leq 0,05$) 58
- Figura 16 - Atividade de β-glicosidase (a, b) e desidrogenase_DHA (c, d) de solo cultivado com milho submetido a inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 e 2022/2023. Barras representam média ± erro-padrão (n = 4). Letras minúsculas comparam fontes (controle, SFT, FNB e FNP) dentro de cada nível de *Ba* (Tukey, $p \leq 0,05$) 60
- Figura 17 - Atividade enzimática de urease (a, b) e diacetato de fluoresceína_FDA (c, d) de solo cultivado com milho submetido a inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato

Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 e 2022/2023. Barras representam média $\pm$ erro-padrão (n = 4). Letras minúsculas comparam fontes (controle, SFT, FNB e FNP) dentro de cada nível de *Ba* (Tukey, $p \leq 0,05$)62

Figura 18 - Atividade de arilsulfatase (a, b) e fosfatase ácida (c, d) de solo cultivado com milho submetido a inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 e 2022/2023. Barras representam média $\pm$ erro-padrão (n = 4). Letras minúsculas comparam fontes (controle, SFT, FNB e FNP) dentro de cada nível de *Ba* (Tukey, $p \leq 0,05$)64

Figura 19 - Comprimento radicular (A, B) e diâmetro (C, D) de raízes de milho submetido a inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e diferentes fontes de P. Médias seguidas da mesma letra em cada período de avaliação, maiúsculas dentro de controle, SFT, FNB e FNP e entre sem e com *Ba*, e minúsculas entre controle, SFT, FNB e FNP e dentro de sem e com inoculação de *Ba* não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), n=4 66

Figura 20 - Área projetada (E, F) e superficial (G, H) de raízes de milho submetido a inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e diferentes fontes de P. Médias seguidas da mesma letra em cada período de avaliação, maiúsculas dentro de controle, SFT, FNB e FNP e entre sem e com *Ba*, e minúsculas entre controle, SFT, FNB e FNP e dentro de sem e com inoculação de *Ba* não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), n=4.....67

Figura 21 - Volume de raízes (A, B) de milho submetido a inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e diferentes fontes de P. Médias seguidas da mesma letra em cada período de avaliação, maiúsculas dentro de controle, SFT, FNB e FNP e entre sem e com *Ba*, e minúsculas entre controle, SFT, FNB e FNP e dentro de sem e com inoculação de *Ba* não diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), n=468

Figura 22 - Matéria orgânica do solo (A), teores de fósforo (B) e de enxofre (C) de solo cultivado com milho na safra 2021/22 submetido a inoculação com *Bacillus*

amyloliquefaciens BV03 (*Ba*) e diferentes fontes de P. Médias seguidas da mesma letra em cada período de avaliação, maiúsculas dentro de controle, SFT, FNB e FNP e entre sem e com *Ba*, e minúsculas entre controle, SFT, FNB e FNP e dentro de sem e com inoculação de *Ba* não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), $n=4$ 69

Figura 23 - Matéria orgânica do solo (A), teores de fósforo (B) e de enxofre (C) de solo cultivado com milho na safra 2022/23 submetido a inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e diferentes fontes de P. Médias seguidas da mesma letra em cada período de avaliação, maiúsculas dentro de controle, SFT, FNB e FNP e entre sem e com *Ba*, e minúsculas entre controle, SFT, FNB e FNP e dentro de sem e com inoculação de *Ba* não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), $n=4$ 71

Figura 24 - Comprimento de espiga (a, b) e número de fileiras de grãos (c, d) cultivado com milho submetido a inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 e 2022/2023. Barras representam média $\pm$ erro-padrão ($n = 4$). Letras minúsculas comparam fontes (controle, SFT, FNB e FNP) dentro de cada nível de *Ba* (Tukey, $p \leq 0,05$)..... 72

Figura 25 - Número de grãos (a, b) e massa de 100 grãos (c, d), de espigas de planta de milho em função da inoculação de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 e 2022/2023. Barras representam média $\pm$ erro-padrão ($n = 4$). Letras minúsculas comparam fontes (controle, SFT, FNB e FNP) dentro de cada nível de *Ba* (Tukey, $p \leq 0,05$)..... 74

Figura 26 - Heatmaps com os indicadores microbiológicos (respiração basal do solo_RBS, carbono da biomassa microbiana_CBM, nitrogênio da biomassa microbiana_NBM, arilsulfatase, β -glicosidase, fosfatase ácida, urease, desidrogenase e diacetato de fluoresceína_FDA e coeficiente metabólico_qCO₂, desenvolvimento radicular (comprimento_CR, diâmetro

médio_DMR, área superficial_AS, área projetada_AP e volume radicular_VR) e componentes de produção (comprimento da espiga_CE, número de fileiras de grãos_NFG, número de grãos por planta_NGP e massa de 100 grãos_M100G) de plantas de milho inoculadas com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e controle e as fontes de P [Superfosfato Triplo (SFT), Fosfato Natural de Bayóvar (FNB), Fosfato Natural de Pratápolis (FNP)] em 2021/2022 (a) e 2022/2023 (b).....76

Figura 27 - Matriz de correlação de Pearson e Teste de Mantel entre indicadores microbiológicos, desenvolvimento radicular e componentes de produção de plantas de milho em 2021/2022 (a) e 2022/2023 (b).....78

CHAPTER 2 - INTERACTION OF *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 AND PHOSPHORUS SOURCES ON CORN PHYSIOLOGY, NUTRITION, AND YIELD

Figure 1 - Location of the experiment and the minimum, average, and maximum temperatures and relative humidity during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Source: Meteorological Station, Lageado Farm, Botucatu, SP, Brazil 101

Figure 2 - Plant height (A, B), stem diameter (C, D), and total leaf area (E, F) of corn at the phenological stages of ten fully developed leaves (V10) and silking and pollination (R1), as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, $n = 4$). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment 107

Figure 3 - Effective photochemical efficiency of PSII (F_v'/F_m') (A,B), effective quantum yield of PSII (Φ_{PSII}) (C,D), and electron transport rate (ETR) (E,F) in corn at the silking and pollination (R1) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not

differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, $n = 4$). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment 110

Figure 4 - Photochemical quenching (qP) (A, B) and non-photochemical quenching (qN) (C, D) in corn at the silking and pollination (R1) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, $n = 4$). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment..... 111

Figure 5 - Vapor pressure deficit (A,B), net CO₂ assimilation (A) (C,D), transpiration rate (E) (E,F), and stomatal conductance (g_s) (G,H) of corn at the silking and pollination (R1) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, $n = 4$). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment 113

Figure 6 - Intercellular CO₂ concentration (C_i) (A, B), instantaneous water use efficiency (WUE) (C, D), and intrinsic carboxylation efficiency (CE) (E, F) of corn at the silking and pollination (R1) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, $n = 4$). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment 115

Figure 7 - Chlorophyll *a* (Chl *a*) (A, B), chlorophyll *b* (Chl *b*) (C, D), and carotenoids (E, F) of corn at the silking and pollination (R1) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, $n = 4$). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment..... 117

Figure 8 - Nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), and sulfur (S) concentrations in corn plants at the silking and pollination (R1) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, $n = 4$). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment 119

Figure 9 - Boron (B), copper (Cu), iron (Fe), manganese (Mn), and zinc (Zn) concentrations in corn plants at the silking and pollination (R1) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, $n = 4$). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment 120

Figure 10 - Shoot dry mass (SDM) (A, B), root dry mass (RDM) (C, D), and shoot-to-root dry matter ratio (E, F) of corn at the physiological maturity (R6) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means $\pm$ standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test (p

≤ 0.05, n = 4). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment..... 122

Figure 11 - Grain mass per plant of corn (A, B) at the physiological maturity (R6) phenological stage, as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons. Means ± standard error of the mean followed by the same letter within each evaluation period do not differ according to Tukey's test ($p \leq 0.05$, n = 4). Uppercase letters compare inoculation (without vs. with *Ba*) within each P source; lowercase letters compare P sources within each inoculation treatment..... 123

Figure 12 - Pearson's correlation matrix (A) and Principal Component Analysis (PCA) (B) of morphophysiological, biochemical, nutritional, and biomass-related variables of corn as affected by *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) inoculation and phosphorus (P) sources during the 2021/22 and 2022/23 crop seasons (n = 4). Asterisks indicate the significance level of the correlations ($p < 0.05$: *; $p < 0.01$: **; $p < 0.001$: ***). Phosphorus sources (P sources) are represented by different symbols: BNP (▲ triangles), Control (◆ diamonds), PNP (■ squares), and TSP (● circles). Inoculation treatments are indicated by symbol color, with blue representing inoculated plants and gray representing non-inoculated plants. Within the plot area, this color coding allows the identification of the effects of inoculation treatments associated with each phosphorus source 125

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA E INDICADORES MICROBIOLÓGICOS EM SOLOS TROPICAIS: EFEITOS DO *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 E FONTES DE FÓSFORO NO DESENVOLVIMENTO DO MILHO

Tabela 1 - Análise química de solo coletado na profundidade de 0 a 20 cm em 2021/22 e 2022/23 em Botucatu – São Paulo – Brasil40

Tabela 2 - Descrição dos tratamentos, fontes e quantidades de fertilizantes por vaso42

CHAPTER 2 - INTERACTION OF *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 AND PHOSPHORUS SOURCES ON CORN PHYSIOLOGY, NUTRITION, AND YIELD

Table 1 - Treatments, phosphorus sources, and fertilizer rates applied per pot 102

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO GERAL	29
	CAPÍTULO 1 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA E INDICADORES MICROBIOLÓGICOS EM SOLOS TROPICAIS: EFEITOS DO <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BV03 E FONTES DE FÓSFORO NO DESENVOLVIMENTO DO MILHO	34
1.1	INTRODUÇÃO	35
1.2	MATERIAL E MÉTODOS	38
1.2.1	Descrição do local.....	38
1.2.2	Características do solo.....	40
1.2.3	Delineamento experimental, tratamentos e manejo agrônomo	40
1.2.4	Avaliações.....	43
1.2.5	Análises estatísticas.....	53
1.3	RESULTADOS	54
1.3.1	Efeitos de <i>Ba</i> BV03 e fontes de P na modulação de indicadores microbiológicos e enzimáticos do solo	54
1.3.2	Efeitos de <i>Ba</i> BV03 no desenvolvimento radicular	64
1.3.3	Efeitos de <i>Ba</i> BV03 na nutrição do solo.....	68
1.3.4	Efeitos de <i>Ba</i> BV03 nos componentes de produção do milho	71
1.3.5	Análise de agrupamento hierárquico e Matriz de correlação de Pearson e Teste de Mantel	74
1.4	DISCUSSÃO	79
1.4.1	<i>Ba</i> BV03 e fontes de P modula indicadores microbiológicos e enzimáticos do solo.....	79
1.4.2	Respostas do sistema radicular ao <i>Ba</i> BV03 e às fontes de P	83
1.4.3	<i>Ba</i> BV03 e a nutrição do solo.....	84
1.4.4	<i>Ba</i> BV03 e os componentes de produção do milho	86
1.5	CONCLUSÕES	87

	REFERÊNCIAS.....	88
	Chapter 2 - Interaction of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BV03 and Phosphorus Sources on Corn Physiology, Nutrition, and Yield	97
2.1	Introduction	97
2.2	Materials and Methods.....	100
2.2.1	Site Description	100
2.2.2	Soil Characteristics	100
2.2.3	Experimental Design, Treatments, and Agronomic Management .	102
2.2.4	Evaluations	103
2.2.5	Statistical Analysis.....	105
2.3	Results.....	106
2.3.1	Impact of <i>B. amyloliquefaciens</i> BV03 Inoculation and Phosphorus Sources on Corn Morphological Parameters	106
2.3.2	Impact of <i>B. amyloliquefaciens</i> BV03 Inoculation and Phosphorus Sources on Corn Physiology	108
2.3.3	Nutrient Content of Corn Leaves	118
2.3.4	Pearson's Correlation Matrix and Principal Component Analysis (PCA)	123
2.4	Discussion	126
2.4.1	Effects of <i>B. amyloliquefaciens</i> BV03 and Phosphorus Sources on Corn Growth and Development	126
2.4.2	Effects of <i>B. amyloliquefaciens</i> BV03 Inoculation and Phosphorus Sources on Corn Physiology	127
2.4.3	Effects of <i>B. amyloliquefaciens</i> BV03 Inoculation and Phosphorus Sources on Nutritional Status	130
2.4.4	Effects of <i>B. amyloliquefaciens</i> BV03 Inoculation and Phosphorus Sources on Plant Biomass and Yield of Corn	131
2.5	Conclusions	132
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	144

REFERÊNCIAS	145
--------------------------	------------

INTRODUÇÃO GERAL

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas mais cultivadas globalmente, por ser essencial para a segurança alimentar, a economia e a produção de ração animal e biocombustíveis. Estados Unidos (384,6 milhões de toneladas), China (292,0 milhões de toneladas) e Brasil (114,5 milhões de toneladas) lideram a produção mundial de milho na safra 2024/25 (FAO, 2024). No Brasil, a cultura ocupa 21,2 milhões de hectares, com rendimento médio de 5.426 kg ha⁻¹, tendo o Estado de Mato Grosso como maior produtor (IBGE, 2024). Para atingir elevadas produtividades, a cultura é submetida a práticas de manejo altamente tecnificadas que buscam, principalmente, melhorias do ambiente produtivo, entre elas, o aprimoramento das condições do solo visando o aumento da fertilidade, em suas propriedades químicas, físicas e biológicas (Conde-Barajas *et al.*, 2025).

Dentre os nutrientes essenciais para o funcionamento do metabolismo vegetal, o fósforo (P) é fundamental para processos bioquímicos como ativação de proteínas, fotossíntese e transferência de energia (Lan *et al.*, 2015; Yue *et al.*, 2023). Apesar de sua relevância no contexto agrícola, o P na camada superficial do solo geralmente representa 50 a 3000 mg kg⁻¹ do solo, mas apenas 0,1% do P total está disponível para absorção pelas plantas (Zou *et al.*, 1992; Zhu *et al.*, 2018), devido à precipitação com cátions no solo, imobilização, adsorção e interconversão para a forma orgânica (Kishore *et al.*, 2015). O P ocorre no solo nas formas orgânica e inorgânica por meio de vários processos do solo (Rawat *et al.*, 2021). O fósforo orgânico constitui mais de 20% do fósforo total no solo, derivado de processos metabólicos biológicos como assimilação de ortofosfato e resíduos microbianos, vegetais categorizados com base na ligação de fósforo em três classes: ésteres de fosfato (fosfatos de açúcar, fosfolipídios, ácidos nucleicos, fosfatos de inositol), fosfonatas (ligações C-P) e anidridos de ácido fosfórico (trifosfatos de adenosina e difosfatos de adenosina) (Huang *et al.*, 2017). Enquanto o inorgânico são fosfatos ligados a minerais como fosfato de cálcio, fosfato de alumínio e fosfato de ferro (Boitt *et al.*, 2018).

A maioria dos solos é deficiente em P disponível para as plantas, e o uso de fertilizantes químicos para satisfazer a demanda e melhorar o rendimento das culturas levou à deterioração do ecossistema e da saúde do solo (Amarasinghe *et al.*, 2022) e à interrupção do equilíbrio da microbiota nos solos. Além disso, o uso excessivo de fertilizantes, embora essencial na agricultura moderna, compromete a biodiversidade

e a saúde do solo, reduz a qualidade dos alimentos, gera impactos ambientais e intensifica o esgotamento das reservas de P (Nedelciu *et al.*, 2020; Iqbal *et al.*, 2024; Garske; Ekardt, 2025).

O processo de adsorção de P inicia-se com a atração dos íons fosfato pelas cargas positivas das partículas de argila, produzindo troca de ligantes, na qual hidroxilas ou moléculas de água são deslocadas por grupos fosfato. As ligações coordenadas aos grupos funcionais da superfície reduzem a labilidade do P, afetando consequentemente a utilização do P pelas plantas (Brignoli *et al.*, 2024). Cerca de 75% do P aplicado por fertilizantes se torna indisponível para as plantas devido a processos abióticos, como adsorção e precipitação, o que limita o crescimento das plantas (Mei *et al.*, 2021). O P se combina com íons metálicos, como Ca^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} e Mg^{2+} , no solo para formar compostos insolúveis, que não podem ser assimilados diretamente pelas plantas (Alewell *et al.*, 2020). O P nos solos está presente nas formas orgânica e inorgânica, mas apenas os íons ortofosfato inorgânicos de HPO_4^{2-} (ortofosfato monoácido) e H_2PO_4^- (ortofosfato biácido) na membrana plasmática da superfície celular da raiz são eficazes como nutrientes minerais para as plantas (Schneider *et al.*, 2019; Amarasinghe *et al.*, 2022).

As fontes de P mineral são classificadas pela solubilidade em água ou em ácido cítrico, o que define sua disponibilidade para as plantas, as fontes mais solúveis como superfosfato simples (SS) e superfosfato triplo (ST) liberam P rapidamente, enquanto fosfatos naturais reativos (FNR) apresentam liberação gradual (Oliveira *et al.*, 2021). Fontes solúveis em água, como o monoamônio fosfato, diamônio fosfato e o superfosfato triplo, oferecem rápida disponibilidade, sendo ideais para culturas com alto retorno econômico como o milho (Sutardi *et al.*, 2025). Já as solúveis em ácido cítrico, como os fosfatos naturais, têm liberação mais lenta e são mais adequadas para solos com pH mais ácido ou onde se busca um efeito residual mais duradouro (Ribeiro; Carmo, 2019).

Diante desse cenário, o aumento sustentável da produção agrícola requer tecnologias que otimizem o uso de fertilizantes (Ribeiro; Carmo, 2019; Amorim *et al.*, 2025). No Brasil, a demanda por fertilizantes fosfatados, combinada com a dependência de fontes externas, destaca a necessidade de explorar fontes alternativas de P pouco solúveis, como depósitos sedimentares nacionais e fontes sedimentares importadas (Ramos *et al.*, 2025). Nesse contexto, o uso de rochas fosfáticas como fertilizantes de baixa solubilidade tem sido incentivado para reduzir

incluindo solubilização e mineralização de fosfato, produção de moléculas semelhantes ao ácido indol-3-acético (IAA), sideróforos, exopolissacarídeos (EPS), biofilmes e fosfatases. Os resultados de Zhou *et al.* (2025) mostraram que a adição de C e PSB aumentou a imobilização de C microbiano, P e as formas reduzidas de P lábil além de que as PSB e o P exógeno promoveram o crescimento das plantas, aumentando a absorção de nutrientes. López-Montañez *et al.* (2024) evidenciaram sinergia entre inoculantes microbianos (*Bacillus subtilis*, *Trichoderma viride* e *Pseudomonas putida*) e adubação mineral (níveis de fertilização de 0%, 50%, 75% e 100%) para aumentar a produtividade e a qualidade nutricional do milho. Luo *et al.* (2024) identificaram que o consórcio de bactérias solubilizadoras de fósforo (*Pantoea* sp. J-1, *Burkholderia cepacia* Z-7 e *Acinetobacter baumannii* B-6) promove o crescimento do milho e altera a composição da comunidade microbiana do solo da rizosfera onde a cepa Z-7 apresentou as maiores capacidades de solubilização de fósforo, fixação de nitrogênio, solubilização de potássio e produção de sideróforos, enquanto a cepa J-1 exibiu o maior rendimento de AIA.

Entre as espécies deste gênero, *Bacillus amyloliquefaciens* tem se destacado como rizobactéria amplamente utilizada para estimular o crescimento vegetal e na supressão de patógenos de plantas, isolada do solo rizosférico de uma planta de algodão (Sevugapperumal *et al.*, 2021; Luo *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2024; Yang *et al.*, 2024). Seu potencial abrange o biocontrole, a produção de enzimas e a proteção ambiental (Ngalimat *et al.*, 2021), além de contribuir para a eficiência na absorção de nutrientes e influenciar as comunidades microbianas (Yang *et al.*, 2024). Mas, ainda são limitados os estudos que exploram a interação de *B. amyloliquefaciens* com diferentes fontes de P na cultura do milho, especialmente em solos tropicais, onde a dinâmica do fósforo é complexa e a previsão aponta que o fornecimento global de fosfato ficará abaixo da demanda em 2040 (Nedelciu *et al.*, 2020).

Estudos têm demonstrado o potencial de bactérias do gênero *Bacillus* spp. no crescimento e desenvolvimento de milho por meio de mecanismos que podem aumentar a eficiência de uso de P e reduzir a dependência de fertilizantes solúveis. Bactérias do gênero *Bacillus* apresentam capacidade de solubilizar formas não disponíveis de P por meio da produção de ácidos orgânicos e enzimas fosfatases, além de atuarem na síntese de fitormônios como o ácido indolacético (AIA), que estimula o crescimento radicular (Poveda *et al.*, 2021; Tsotetsi *et al.*, 2022; Azeem *et al.*, 2023; Cabrera *et al.*, 2024).

Os mecanismos de solubilização de fosfato inorgânico ocorrem através da produção de ácidos orgânicos (Wei *et al.*, 2018) e a mineralização de fontes orgânicas de fosfato devido à ação de fosfatases e fitases (Singh *et al.*, 2020), além da produção de hormônios vegetais como o ácido indolacético (Kumar; Prasad, 2025), o qual promove o aumento da biomassa radicular. Os ácidos orgânicos exsudados solubilizam o fosfato inorgânico por meio da quelação de cátions ligados ao fosfato, redução do pH, complexação com íons metálicos ligados ao fosfato e o P para locais de adsorção (Kishore *et al.*, 2015; Rawat *et al.*, 2021).

Entretanto, há lacunas quanto à interação entre *B. amyloliquefaciens* cepa BV03 e diferentes fontes de fósforo na cultura do milho, especialmente em condições tropicais. A literatura carece de estudos que comparem de forma integrada no sistema solo-planta o desempenho agrônômico dessa cultura, os efeitos na disponibilidade de fósforo do solo e as alterações morfofisiológicas na planta quando o inoculante é associado a fontes fosfatadas de diferentes solubilidades, como os fosfatos naturais Bayóvar e de Pratápolis.

A associação entre *B. amyloliquefaciens* e fontes alternativas de P pode representar uma alternativa viável para reduzir custos de produção, aumentar a disponibilidade de P para as plantas e minimizar/mitigar impactos ambientais adversos (perdas de nutrientes por lixiviação e escoamento superficial, poluição ambiental e comprometimento da saúde do solo, e emissões de gases de efeito estufa) decorrentes do uso excessivo de fertilizantes minerais.

A nossa hipótese é que a inoculação de *B. amyloliquefaciens* BV03 promove a solubilização e mineralização e aproveitamento do P no solo, potencializando a eficiência agrônômica de fontes de fósforo de baixa solubilidade, resultando em:

1. crescimento e desenvolvimento radicular, indicadores microbiológicos, fertilidade do solo;
2. biometria, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos fotossintéticos, biomassa vegetal, diagnose nutricional, componentes de produção e produtividade do milho.

Assim, o nosso objetivo é avaliar os efeitos da interação de *B. amyloliquefaciens* BV03 com fontes de diferentes solubilidades de fósforo sobre o crescimento e o desenvolvimento radicular e da parte aérea, os indicadores microbiológicos e a fertilidade do solo, a fisiologia, a diagnose nutricional e a produtividade do milho.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nos dois experimentos evidenciam que a integração entre *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 (*Ba*) e fontes minerais de fósforo representa uma estratégia relevante para aprimorar a eficiência do manejo agrícola da cultura do milho.

A inoculação com *Bacillus amyloliquefaciens* BV03, associada ao manejo de fontes fosfatadas, atua como um modulador da saúde do solo, evidenciado pelo aumento da atividade de enzimas-chave (β -glicosidase, desidrogenase e urease) e pela melhoria na eficiência do uso do carbono pela biomassa microbiana. Embora as respostas variem em magnitude entre os ciclos de cultivo, a sinergia entre o *Ba* BV03 e fontes de fósforo de alta e média solubilidade (SFT e FNB) resultou em um sistema radicular mais exploratório e em componentes de produção superiores.

No desenvolvimento das plantas de milho, a inoculação de sementes com *B. amyloliquefaciens* BV03, isoladamente ou combinada com diferentes fontes de fósforo, resultou em respostas positivas de biometria, fisiologia, bioquímica, nutrição e produtividade do milho. A magnitude dessas respostas variou de acordo com a solubilidade das fontes de P e as condições de cada ano agrícola, demonstrando que a interação é dinâmica e sensível ao ambiente. Ainda assim, os ganhos observados com *Ba*, *Ba* + SFT e *Ba* + FNB indicam que a combinação entre bactérias promotoras de crescimento e fontes de P, tanto solúveis quanto naturais, pode otimizar o metabolismo vegetal e melhorar a eficiência de uso de nutrientes.

De forma geral, os achados reforçam o potencial de *B. amyloliquefaciens* BV03 como componente estratégico em programas de manejo sustentável da fertilização fosfatada. A inoculação, isolada ou associada a fosfato natural de Bayóvar (FNB) pode contribuir para sistemas produtivos mais eficientes, reduzindo dependências externas e promovendo maior resiliência dos cultivos. Estudos de longa duração e em condições de campo são recomendados para fortalecer as evidências encontradas e ampliar a compreensão sobre a estabilidade dos efeitos observados em diferentes ambientes e sistemas de manejo.

REFERÊNCIAS

- ALEWELL C.; RINGEVAL, B.; BALLABIO, C.; ROBINSON, D. A.; PANAGOS, P.; BORRELLI, P. Global phosphorus shortage will be aggravated by soil erosion. **Nature Communications**, v.11, n. 1, p. 1–12, 2020.
- AMARASINGHE, T.; MADHUSHA, C.; MUNAWEERA, I.; KOTTEGODA, N. Review on the mechanisms of phosphate solubilization in natural phosphate fertilizer. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 53, n. 8, p. 944–960, 2022.
- AMORIM, M.B.; TIECHER, T.; FONTOURA, S.M.V.; FINK, J.; BAYER, C. Phosphorus efficiency and availability in subtropical latosols under no-tillage. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 25, p. 1089–1104, 2025.
- BINI D.; MATTOS B. B.; FIGUEIREDO J. E. F.; SANTOS, F.C.; MARRIEL I. E.; SANTOS C. A.; OLIVEIRA-PAIVA C. A. Evaluation of parameters for the development of phosphate-solubilizing *Bacillus* inoculants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 737–748, 2024.
- BOITT, G.; SIMPSON, Z.P.; TIAN, J.; BLACK, A.; WAKELIN, S.A.; CONDRON, L.M. Plant biomass management impacts on short-term soil phosphorus dynamics in a temperate grassland. **Biology and Fertility of Soils**, v. 54, p. 397–409, 2018.
- BRIGNOLI, F.M.; MUMBACH, G.L.; GATIBONI, L.; ALMEIDA JUNIOR, J.H.V.; GONÇALVES, J.V. F.; BATISTA, M.A. Soil Properties Related to Phosphorus Sorption and Prediction of Maximum Phosphorus Adsorption Capacity of Soils from Southern Brazil. **J Soil Sci Plant Nutr**, v. 24, p. 3830–3842, 2024.
- CONDE-BARAJAS, E.; NEGRETE-RODRÍGUEZ, M. D. L. L. X.; ÁLVAREZ-BERNAL, D.; GÁMEZ-VÁZQUEZ, F. P.; LASTIRI-HERNÁNDEZ, M. A.; PATIÑO-GALVÁN, H.; SILVA-MARTÍNEZ, G. A.; TRISTÁN-FLORES, F. E.; BEDOLLA-RIVERA, H. I. Corn cultivation and its relationship with soil quality: a focus on soil quality index methodologies. **Land**, v.14, n. 4, p.861, 2025.
- FADIJI, A.E.; OROZCO-MOSQUEDA, M. D. C.; SANTOS-VILLALOBOS, S.; SANTOYO G.; BABALOLA O. O. Recent developments in the application of drought-adaptive rhizobacteria promoting plant growth for drought mitigation. **Plants**, v. 11, n. 22, 3090, 2022.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations
<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Acessado em: 06 de junho de 2025.
- FAVARO, C. P.; KLAIC, R.; BETTIOL, W.; RIBEIRO, C.; FARINAS, C. S. Biobased composite granules with simultaneous biocontrol and phosphorus fertilization functions: results of a laboratory-scale in vitro evaluation. **Biotechnology Progress**, v. 38, n. 3, p. e3242, 2022.

GARSKE, B.; HEYL, K.; EKARDT, F. How economic instruments address the sustainable use of nutrients: the example of phosphorus governance.

Environmental Sciences Europe, v. 37, n. 9, 2025.

HUANG, L.M.; JIA, X.X.; ZHANG, G.L.; SHAO, M.A. Soil organic phosphorus transformation during ecosystem development: A review. **Plant Soil**, v. 417, p. 17–42, 2017b.

HUSSAIN, A.; ADNAN, M.; IQBAL, S.; FAHAD, S.; SAEED, M.; MIAN, I.A.; MUHAMMAD M.W.; ROMMAN, M.; PERVEEZ, R.; WAHID, F.; SUBHAN, F. The combination of phosphorus (P) with phosphate-solubilizing bacteria (PSB) improved wheat yield and P uptake in alkaline soil. **Pure and Applied Biology**, v. 8, p. 1809–1817, 2019.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Disponível em:

<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/milho-em-grao/mt>. Acessado em: 06 de junho de 2025.

IQBAL Z.; AHMAD M.; RAZA M. A.; HILGER T.; RASCHE F. Phosphate-solubilizing *Bacillus* sp. modulate soil exoenzyme activities and improve wheat growth. **Microbial Ecology**, v. 87, n. 31, 2024.

KISHORE, N.; PINDI, P.K.; REDDY, S.R. Phosphate-solubilizing microorganisms: A critical review. In: BAHADUR, B.; RAJAM, M. V.; SAHIJRAM, L.; KRISHNAMURTHY, K. (eds) **Plant Biology and Biotechnology**. Springer, New Delhi., pp 307–333, 2015.

LAN, P.; LI, W.; SCHMIDT, W. Omics' approaches towards understanding plant phosphorus acquisition and use. In: Plaxton WC, Lambers H (eds) **Annual plant reviews** volume 48: phosphorus metabolism in plants, 1st edn. Wiley, New York, pp 65–98, 2015.

LI, H.; CHEN, S.; WANG, M.; SHI, S.; ZHAO, W.; XIONG, G.; ZHOU, J.; QU, J. The phosphate solubilization and plant growth properties are promoted by a lactic acid bacterium in calcareous soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 108, 24, 2024.

LI, H.Z.; PENG, J.; YANG, K.; ZHANG, Y.; CHEN, Q-L.; ZHU, Y-G.; CUI, L. Single-cell exploration of active phosphate-solubilizing bacteria across diverse soil matrices for sustainable phosphorus management. **Nature Food**, v. 5, p. 673–683, 2024.

Li, L.; Luo, L.; Raza, A.; Yin, C. Both the application of *Bacillus amyloliquefaciens* and the application of selenite fertilizers improved spring tea quality and selenium content. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 24, p. 7669–7679, 2024.

LÓPEZ-MONTAÑEZ, R.; CALERO-RIOS, E.; QUISPE, K.; HUASASQUICHE, L.; LASTRA, S.; LA TORRE, B.; SOLÓRZANO, R. Synergy between microbial inoculants and mineral fertilization to enhance the yield and nutritional quality of maize on the Peruvian Coast. **Applied Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 1757-1775, 2024.

LUO, D.; SHI, J.; LI, M.; CHEN, J.; WANG, T.; ZHANG, Q.; YANG, L.; ZHU, N.; WANG, Y. A consortium of phosphorus-solubilizing bacteria promotes the growth of

corn and alters the composition of the microbial community of the rhizosphere soil. **Agronomy**, v.14, n. 7, p. 1535, 2024.

LUO, L.; ZHAO, C.; WANG, E.; RAZA, A.; YIN, C. *Bacillus amyloliquefaciens* as an excellent agent for biofertilizer and biocontrol in agriculture: An overview of its mechanisms. **Microbiological Research**, v. 259, 127016, 2022.

MEI, C.; CHRETIEN, R. L.; AMARADASA, B. S.; HE, Y.; TURNER, A.; LOWMAN, S. Characterization of phosphate-solubilizing bacterial endophytes and promotion of plant growth in vitro and in greenhouse. **Microorganisms**, v. 9, n. 1935, 2021.

NEDELICIU, C. E.; RAGNARSDOTTIR, K. V.; SCHLYTER, P.; STJERNQUIST, I. Global phosphorus supply chain dynamics: Assessing regional impact to 2050. **Global Food Security**, v. 26, n. 100426, 2020.

NGALIMAT, M. S.; YAHAYA, R. S.; BAHARUDIN, M. M. A.; YAMINUDIN, S. M.; KARIM, M.; AHMAD, S. A.; SABRI, S. A review on the biotechnological applications of the operational group *Bacillus amyloliquefaciens*. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 614, 2021.

OLIVEIRA, L.C.A.; CARNEIRO, M. A.; LITTER, F.A.; CARVALHO, M.A. C.; YAMASHITA, O. M.; CAIONE, G. As Frações de fósforo em função do uso de fertilizantes fosfatados em distintas classes de solo. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 14, n. 4, p. 1–15, 2021.

OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; BINI, D.; SOUSA, S. M.; RIBEIRO, V. P.; SANTOS, F. C.; PAULA LANA, U. G.; SOUZA, F. F.; GOMES, E. A.; MARRIEL, I. E. Inoculation with *Bacillus megaterium* CNPMS B119 and *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 improve P-acquisition and maize yield in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 1426166, 2024.

PATANI, A.; PATEL, M.; ISLAM, S.; YADAV, V. K.; PRAJAPATI, D.; YADAV, A. N.; SAHOO, D. K.; PATEL, A. Recent advances in *Bacillus*-mediated plant growth enhancement: a paradigm shift in redefining crop resilience. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 77, 2024.

PEREIRA, N. C. M.; GALINDO, F. S.; GAZOLA, R. P. D.; DUPAS, E.; ROSA, P. A. L.; MORTINHO, E. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Corn yield and phosphorus use efficiency response to phosphorus rates associated with plant growth promoting bacteria. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, n. 40, 2020.

RAMOS, J. F. K.; ALVES, B. J. R.; ALONSO, J. M.; TEIXEIRA, P. C.; BENITES, V. M. Characterization and agronomic efficiency of natural and recovered phosphates in tropical soil with corrected acidity. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 49, n. nspe1, p. e0240099, 2025.

RAWAT, P.; DAS, S.; SHANKHDHAR, D.; SHANKHDHAR, S. C. Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and absorption. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 49–68, 2021.

RIBEIRO, C.; CARMO, M. Why nonconventional materials are answers for sustainable agriculture. **MRS Energy & Sustainability**, v. 6, n. 7, 2019.

SCHNEIDER K.D.; THIESSEN MARTENS J.R.; ZVOMUYA F.; REID D.K.; FRASER T.D.; LYNCH D.H.; O'HALLORAN I.P.; WILSON H.F. Options for improved phosphorus cycling and use in agriculture at the field and regional scales. **Journal of Environmental Quality**, v. 48, n. 5, p. 1247–1264, 2019.

SEVERO, H. C.; ARAUCO, A. M. DE S.; NUNES, R. W. F.; MONTEIRO, G. N.; DUARTE, M. H. F.; SILVA, A. P. DA M.; FERREIRA, A. C.; LUZ, M. R.; MIRANDA, R. S.; ARAÚJO, A. S. F.; COSTA, E. M. The co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus subtilis* improves morphological characteristics, growth and nutrient uptake in maize under limited phosphorus availability. **Scientific Reports**, v.15, 25448, 2025.

SEVUGAPPERUMAL, N.; PRAJAPATI, V.S.; MURUGAVEL, V.; PERUMAL, R. Draft Genome Sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* Strain CB, a Biological Control Agent and Plant Growth-Promoting Bacterium Isolated From Cotton (*Gossypium* L.) Rhizosphere in Coimbatore, Tamil Nadu, India. **Front. Genet.**, v. 12, p. 704165, 2021.

SINGH, M.; SHARMA, J.G.; GIRI, B. Microbial inoculants improve growth in *Zea mays* L. under drought stress by up-regulating antioxidant, mineral acquisition, and ultrastructure modulations. **Symbiosis**, v.91, p.55–77, 2023.

SOUSA, S. M.; OLIVEIRA, C. A.; ANDRADE, D. L.; CARVALHO, C. G.; RIBEIRO, V. P.; PASTINA, M. M.; MARRIEL, I. E.; LANA, U. G.P.; GOMES, E. A. Tropical *Bacillus* strains inoculation enhances maize root surface area, dry weight, nutrient uptake and grain yield. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 867–877, 2021.

SUTARDI; GHULAMAHDI, M.; AZIZ, S. A.; ASWIDINNOOR, H.; ANDA, M. Smart fertilizer: Improver-based NPK coating increased rice yield and quality in vertisol rice soil. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 34, 2025.

TANVEER, Y.; YASMIN, H.; NOSHEEN, A.; FARAH, M. A.; ALTAF, M. A. Synergizing *Bacillus halotolerans*, *Pseudomonas sihuiensis* and *Bacillus atrophaeus* with folic acid for enhanced drought resistance in wheat by metabolites and antioxidants. **BMC Plant Biology**, v. 24, n. 1003, 2024.

YANG Z.; LUO Y.; CHEN H.; ZHANG Y.; WU S.; YANG M.; JIA J.; ZHOU C.; ZHOU Y. The addition of vermicompost improved soil aggregate stability, enzyme activity, and available soil nutrients. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 24, p. 6760–6774, 2024.

YANG, K.; DAI, X.; MAITIKADIR, Z.; ZHANG, H.; HAO, H.; YAN, C. Comparative genome analysis of endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* MR4: a potential biocontrol agent isolated from wild medicinal plant root tissue. **Journal of Applied Genetics**, v. 65, p. 907–923, 2024.

YUE, Z.; CHEN, C.; LIU, Y.; CHEN, X.; CHEN, Y.; HU, C.; ZHENG, M.; ZHANG, J.; HE, L.; MA, K.; SUN, Z. Phosphorus solubilizing *Bacillus altitudinis* WR10 alleviates wheat phosphorus deficiency via remodeling root system architecture, enhancing

phosphorus availability, and activating the ASA-GSH cycle. **Plant Soil**, v. 492, p. 367–379, 2023.

ZHOU G.; WANG M.; ZHU H.; WANG J.; ZHANG S. Effects of organic carbon, inorganic phosphorus, and phosphorus-solubilizing bacteria on maize growth, nutrient uptake, and rhizosphere phosphorus availability. **Frontiers in Plant Science**, v. 16, 1644448, 2025.

ZHU, J.; LI, M.; WHELAN, M. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: a review. **Science of the Total Environment**, v. 612, p. 522–537, 2018.

ZOU, X.; BINKLEY, D.; DOXTADER, K.G. A new method for estimating gross phosphorus mineralization and immobilization rates in soils. **Plant and Soil**, v. 147, p. 243–250, 1992.