

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Engenharia Ilha Solteira
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos
CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA

**COINOCULAÇÕES DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO
CRESCIMENTO DE PLANTAS PARA INCREMENTAR A
NUTRIÇÃO E A PRODUTIVIDADE DA CULTURA DA SOJA
NO CERRADO**

GUILHERME HENRIQUE MARCANDALLI BOLETA

Ilha Solteira – SP
Dezembro de 2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira
Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos
CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA

**COINOCULAÇÕES DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO
CRESCIMENTO DE PLANTAS PARA INCREMENTAR A
NUTRIÇÃO E A PRODUTIVIDADE DA CULTURA DA SOJA
NO CERRADO**

GUILHERME HENRIQUE MARCANDALLI BOLETA

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

**Trabalho de graduação apresentado à
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira -
UNESP, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo.**

Ilha Solteira – SP
Dezembro de 2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

- B688c Boleta, Guilherme Henrique Marcandalli Boleta.
Coinoculações de bactérias promotoras do crescimento de plantas para incrementar a nutrição e a produtividade da cultura da soja no cerrado / Guilherme Henrique Marcandalli Boleta Boleta. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023 45 f. : il.
- Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2023
- Orientador: Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho
- Inclui bibliografia
1. *Glycine max* l. 2. Fixação biológica de nitrogênio. 3. Inoculação.


Amanda Sertori dos SantosBibliotecária - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE ENGENHARIA - CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

CURSO DE ENGENHARIA AGRONÔMICA

ATA DA DEFESA – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO: COINOCULAÇÕES DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE
PLANTAS PARA INCREMENTAR A NUTRIÇÃO E A PRODUTIVIDADE DA CULTURA
DA SOJA NO CERRADO

ALUNO: Guilherme Henrique Marcandalli Boleta RA: 191052027

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

Aprovado ☒ - Reprovado () pela Comissão Examinadora com Nota: 10

Comissão Examinadora:



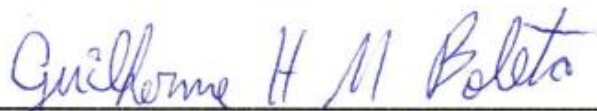
Prof. Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho
Presidente (Orientador)



Prof. Dr. Prof. Edson Lazarini



Prof. Dr. Carlos Eduardo da Silva Oliveira



Aluno Guilherme Henrique Marcandalli Boleta

Ilha Solteira, 14 de dezembro de 2023.

DEDICO...

Aos meus pais, Carlos Alberto Boleta e Conceição Aparecida Marcandalli Boleta, por terem me ensinado os primeiros passos para chegar até aqui.

OFEREÇO...

A Deus, a minha família e a todos que cruzaram o meu caminho nestes 4 anos e meio de faculdade. Sou grato por estes encontros, que marcaram a minha trajetória até este momento, e que digo, com muito orgulho, que são parte da minha história.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Carlos Alberto Boleta e Conceição Aparecida Marcandalli Boleta, que são a minha base e proporcionaram a oportunidade de estudar e chegar até onde cheguei.

Ao meu querido irmão Eduardo Henrique Marcandalli Boleta, que sempre foi uma inspiração para mim, por sempre ter me ajudado, compartilhando conhecimentos, conselhos e momentos juntos.

A minha namorada Vitória, por todos os momentos vividos juntos, compartilhando a vida deixando-a mais leve e superando os desafios enfrentados até aqui.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Ilha Solteira, por ter me ensinado e ajudado a subir degraus na vida, tanto profissionalmente quanto pessoalmente.

Aos professores do curso de Engenharia Agrônômica da UNESP - Ilha Solteira, por sempre me desafiarem na busca de melhores resultados e estimular meu crescimento pessoal e profissional.

Ao professor Dr. Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, o qual foi e sempre será meu orientador, me mostrou a necessidade e a importância da pesquisa. Além de ser um exemplo de paciência, empatia e trabalho em equipe, meu muito obrigado e parabéns pelos trabalhos desenvolvidos!

A República S’ócio, minha segunda casa, e amigos que moraram comigo durante a graduação, onde passamos por muitos momentos felizes e também desafiadores juntos, será sempre lembrado por mim como minha segunda casa: Leandro Suzuki (Kitida), Jhonatan Benelli (Godines), Alnaldo Pinhoni (Picapau), Castro Junior (Feipa), Jhon Willian (Beikin), Bruno Horschut (Batoré), Alex Guerreiro (Furto), Vinicius Raspini (Burraxa), Guilherme Ferreira (Tijolinho), Gabriel Inácio (Cicarelli), João Victor (Subway), Luiz Previatto (Fitinha), Pedro Spricido (Toicin), Fred Samuel (Mandruva), João Pedro (Sem Nada), Bruno Volpato (Rabicó), Mateus Bessão (Kirela), Bruno Emídio (Matias), a Dona Vilma e Dona Margarete (nossas “mães” da República), aos novos moradores que continuaram com nosso

legado e aos ex moradores que são nossos exemplos e que nos auxiliam na vida acadêmica/profissional.

Aos colegas de Turma LVII, por terem me ensinado a importância da união e amizade.

Aos amigos da equipe de Nutrição de Plantas, por me mostrarem a importância do trabalho em equipe, responsabilidade e trabalhar de forma séria e alegre ao mesmo tempo, com comprometimento dedicação e profissionalismo, em especial ao técnico Marcelo Rinaldi. Bruno Horschut de Lima e Carlos Eduardo da Silva Oliveira.

Aos amigos do Centro Acadêmico, onde me proporcionou experiência trabalho e crescimento profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e a Fundação de Ensino e Pesquisa de Ilha Solteira, pelo auxílio financeiro com bolsa de Iniciação Científica PIBIC/CNPq e FEPISA.

RESUMO

Dentre os desafios para aumentar a produção de alimentos e atender à crescente demanda populacional, são comumente aplicadas altas doses de fertilizantes. Nesse sentido, devido ao alto custo dos insumos minerais não renováveis, e a conscientização em busca de uma agricultura regenerativa, tornam-se cada vez mais comuns pesquisas com microorganismos como bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), que além de propiciarem a FBN, têm se destacado pela síntese de compostos com ação bioestimulante (fito-hormonal) e biofertilizante, sendo utilizadas uma ou mais estirpes no cultivo. Portanto, o objetivo foi estudar o estado nutricional, os parâmetros produtivos e a produtividade da cultura da soja, em função de diferentes coinoculações entre as BPCPs, em região de Cerrado. O experimento foi desenvolvido na safra 2021 em Latossolo Vermelho Distrófico de textura argilosa sob sistema plantio direto. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e 12 tratamentos: T1 – inoculação apenas com *Bradyrhizobium japonicum*, sendo adicionado a todos os demais tratamentos; T2 – *Azospirillum brasilense* (estirpes Ab-V5 e Ab-V6); T3 – *Bacillus subtilis* (estirpe CCTB04); T4 - *Bacillus amyloliquefaciens* (estirpe CCTB06); T5 – *Pseudomonas fluorescens* (estirpe CCTB03); T6 – Gram Negativas: *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T7 – Gram Positivas: *B. subtilis* + *B. amyloliquefaciens*; T8 – Gram-positivas + *A. brasilense* T9 – Gram-positivas + *P. fluorescens*; T10 – Gram-negativas + *B. subtilis*; T11 – Gram-negativas + *B. amyloliquefaciens*; T12 – Coinoculação com todas as BPCPs. Para a massa e número de nódulos, foi observado incrementos da ordem de 216% e 300% nos tratamentos T11 e T10, em relação T1, respectivamente. A absorção dos macronutrientes K, Ca e Mg podem ser influenciada pela aplicação das coinoculações com BPCPs. O mesmo ocorre para os micronutrientes catiônicos, com aumento das concentrações de Cu e Zn, e redução da concentração de Fe na folha diagnose da soja. Com base no presente trabalho foi possível concluir que misturas de bactérias BPCPs no sulco de semeadura são efetivas no aumento da produtividade da cultura da soja, com destaque para os tratamentos T9, T4, T12, T3 e T6 respectivamente, sendo o T9 (*Pseudomonas fluorescens* + *Bacillus subtilis* + *Bacillus amyloliquefaciens*) o melhor entre eles, que resultou em um incremento de 13,7 sacas por hectare.

Palavras-chave: *Glycine max* L., Fixação biológica de nitrogênio, Inoculação.

ABSTRACT

Among the challenges to increasing food production and meeting growing population demand, high doses of fertilizers are commonly applied. In this sense, due to the high cost of non-renewable mineral inputs, and the awareness in search of regenerative agriculture, research with microorganisms such as plant growth-promoting bacteria (BPCPs) has become increasingly common, which in addition to providing FBN, have stood out for the synthesis of compounds with biostimulant (phytohormonal) and biofertilizer action, with one or more strains being used in cultivation. Therefore, the objective was to study the nutritional status, productive parameters and productivity of soybean crops, depending on different coinoculations between BPCPs, in the Cerrado region. The experiment was carried out in the 2021 harvest in a Dystrophic Red Oxisol with a clayey texture under a direct planting system. The experimental design was in randomized blocks with four replications and 12 treatments: T1 – inoculation only with *Bradyrhizobium japonicum*, being added to all other treatments; T2 – *Azospirillum brasilense* (strains Ab-V5 and Ab-V6); T3 – *Bacillus subtilis* (strain CCTB04); T4 - *Bacillus amyloliquefaciens* (strain CCTB06); T5 – *Pseudomonas fluorescens* (strain CCTB03); T6 – Gram Negative: *A. brasilense* + *P. fluorescens*; T7 – Gram Positive: *B. subtilis* + *B. amyloliquefaciens*; T8 – Gram-positive + *A. brasilense* T9 – Gram-positive + *P. fluorescens*; T10 – Gram-negative + *B. subtilis*; T11 – Gram-negative + *B. amyloliquefaciens*; T12 – Coinoculation with all BPCPs. For the mass and number of nodules, increases of the order of 216% and 300% were observed in treatments T11 and T10, in relation to T1, respectively. The absorption of macronutrients K, Ca and Mg can be influenced by the application of coinoculations with BPCPs. The same occurs for cationic micronutrients, with an increase in the concentrations of Cu and Zn, and a reduction in the concentration of Fe in the soybean leaf. Based on the present work, it was possible to conclude that mixtures of BPCPs bacteria in the sowing furrow are effective in increasing the productivity of soybean crops, with emphasis on treatments T9, T4, T12, T3 and T6 respectively, with T9 (*Pseudomonas fluorescens* + *Bacillus subtilis* + *Bacillus amyloliquefaciens*) the best among them, which resulted in an increase of 13.7 bags per hectare.

Keywords: *Glycine max* L., Biological nitrogen fixation, Inoculation.

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Anexo 1. Imagens da preparação, semeadura e aplicação dos tratamentos.....	29
Anexo 2. Imagens do estande pós-emergência e desenvolvimento das plantas.....	30
Anexo 3. Imagens das plantas em R6.....	31
Anexo 4. Imagens das plantas em R8 (Maturação Plena) e colheita.....	32
Anexo 5. Imagens das avaliações dos componentes produtivos e biométricos.....	33
Anexo 6. Imagens das análises nutricionais realizadas no Laboratório de Nutrição de Plantas – FEIS - UNESP.....	34

LISTA DE TABELAS

Páginas

Tabela 1. Componentes biométricos e avaliação da biomassa em R2 (florescimento) da cultura da soja, cultivada a campo, em função de diferentes misturas BPCPs aplicadas via jato dirigido no sulco de semeadura. Ilha Solteira-SP 2022.....	22
Tabela 2. Componentes biométricos e produtivos em R8 (maturação plena) da cultura da soja, cultivada a campo, em função de diferentes coinoculações BPCPs aplicadas via jato dirigido no sulco de semeadura. Ilha Solteira-SP, 2022.....	24
Tabela 3. Concentrações nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), e enxofre (S) e na folha diagnose da cultura da soja no estágio de pleno florescimento (R2). Ilha Solteira, SP 2022.....	26
Tabela 4. Concentrações de boro (B), cobre (Cu), Manganês (Mn) e zinco (Zn) na folha diagnose da cultura da soja no estágio florescimento pleno (R2). Ilha Solteira, SP 2022.....	27

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. COINOCULAÇÃO COM BPCPs: DA INFECÇÃO AOS MECANISMOS DE PROMOÇÃO VEGETAL	11
2.2. A RIZOSFERA COMO MEIO PARA INTERAÇÃO DE COMUNIDADES MICROBIANAS COM ESPÉCIES VEGETAIS	18
2.3. CULTURA DA SOJA E O SUCESSO DA COINOCULAÇÃO COM <i>Bradyrhizobium sp.</i> e <i>Azospirillum brasilense</i>	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5. CONCLUSÕES	31
FOTOS	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado País modelo na aplicação dos benefícios da fixação biológica do N₂ (FBN), especialmente pela utilização de estirpes elite de *Bradyrhizobium* com a cultura da soja, em simbioses capazes de suprir quase que totalmente (> 90%) a demanda da planta por nitrogênio (Garcia, Nogueira e Hungria, 2021). Estimativas apontam para contribuições da FBN da ordem de mais de 300 kg ha⁻¹ de N, além da liberação na palhada de 20~30 kg ha⁻¹ de N para a cultura seguinte. Outro grupo de microrganismos benéficos é representado por bactérias associativas como o *Azospirillum brasilense*, capazes de promover o crescimento das plantas por meio de vários processos, incluindo a produção de hormônios de crescimento como ácido indolacético (AIA), giberelinas (GAs) e citocininas, indução de resistência sistêmica a doenças e estresses ambientais, capacidade de solubilizar fosfato e, também, de realizar FBN (Radwan, Mohamed e Reis, 2004).

A técnica da coinoculação, cada dia mais difundida, consiste na combinação de dois ou mais microrganismos distintos, que atuando em conjunto, são capazes de produzir efeitos sinérgicos, como maior FBN, desenvolvimento do sistema radicular, e consequente melhoria na absorção de água e nutrientes. Neste contexto, inoculantes à base de bactérias diazotróficas têm sido recomendados para a cultura da soja, com base na interação entre *Azospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium*, que têm demonstrado benefícios na nutrição e produtividade da cultura quando utilizados em conjunto (Galindo, 2018).

No entanto, esta tecnologia geralmente se limita apenas a dois parceiros microbianos, e tanto na literatura científica há poucos trabalhos à campo envolvendo três ou quatro bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCPs) aplicadas conjuntamente. Abdallah et al. (2018) consideram que os consórcios de bactérias são eficientes, pois cada parceiro pode realizar diferentes partes da rota de degradação catabólica, como um sinergismo BPCPs-hospedeiro, trazendo assim uma soma de benefícios, sendo a maioria destes ainda não desvendados nas principais culturas cultivadas.

Bactérias como as do gênero *Bacillus* sp. são capazes de formar um biofilme muito forte e estável na rizosfera, constituído por uma comunidade bacteriana multicelular, conferindo ao hospedeiro vegetal tolerância à estresses bióticos e abióticos (stress hídrico, ataque de nematoides, competição com daninhas), síntese de metabólitos que promovem o crescimento vegetal (AIA, GAs, ACC-disseminases), melhoram a eficiência de formas nitrogenadas (NO₃⁻, NH₄⁺) e ureídeos, bem como, previnem a infecção de patógenos, pela síntese de compostos orgânicos voláteis de ação antifúngica e anti-biótica (Radhakrishnan et al., 2017). Dentre as BPCPs, a *Pseudomonas fluorescens* é uma das mais promissoras, devido suas características de rápido crescimento, simples requisitos nutricionais, alta mobilidade e capacidade de utilizar diversos substratos orgânicos. São rizobactérias gram-negativas, aeróbicas, que colonizam

profundamente a superfície da raiz, e são capazes de colonizar e persistir na rizosfera por longo ciclo (Dorjey, Dorkai e Sharma, 2017).

Abdallah et al. (2018) em ensaio in vitro com plântulas de tomate inoculados com *Bacillus amyloliquefaciens* observaram que as plântulas inoculadas resultaram em 36,3 e 27,2% de incremento no comprimento de raízes e brotos, respectivamente. Oliveira et al. (2012a) verificaram incremento de 24 e 11% nos teores de P e K dos grãos de milho inoculados com *Pseudomonas spp.*, além de aumento de 22% na produtividade. Apesar destes resultados, trabalhos avaliando o efeito da coinoculação com mais de duas BPCPs são escassos.

Diante o exposto, torna-se evidente a necessidade de novos estudos acerca da utilização de BPCPs e suas interações, e acredita-se que possam existir efeitos sinérgicos benéficos ainda não descobertos pela prática de uma ‘coinoculação múltipla’ envolvendo combinações das bactérias *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas fluorescens* e *Azospirillum brasilense*, e seus efeitos na dinâmica nutricional, culminando em maior desenvolvimento e produtividade da cultura da soja. Ressalta-se ainda que o baixo custo de inoculantes, somado a facilidade de aquisição e sua crescente difusão no mercado, permite a adoção da tecnologia de forma viável e promissora, rumo à uma agricultura cada vez mais sustentável. Sendo assim, o objetivo foi estudar o estado nutricional, o acúmulo de matéria seca, os parâmetros produtivos e a produtividade da cultura da soja, em função de diferentes coinoculações entre as BPCPs (*B. subtilis*, *P. fluorescens*, *B. amyloliquefaciens* e *A. brasilense*) e *Bradyrhizobium japonicum*, em região de Cerrado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. COINOCULAÇÃO COM BPCPs: DA INFECÇÃO AOS MECANISMOS DE PROMOÇÃO VEGETAL

Durante o século passado, os avanços na agricultura aliados a descobertas científicas provocaram um aumento significativo e essencial na produtividade dos cultivos, garantindo assim alimentos à população mundial (Lobell et al., 2011). No entanto, juntamente com os avanços da agricultura, surgiram sérios problemas socioambientais, como a degradação de habitats naturais e áreas de preservação, poluição dos solos e da água, aumento da temperatura terrestre, e ainda assim, a população mundial continua crescendo ano a ano (Pérez-Montano et al., 2014). Nesse sentido, torna-se essencial manter os incrementos produtivos, de forma a alterar o menos possível o meio ambiente. Claramente, devemos buscar soluções para uma agricultura mais ambientalmente sustentável, que mantenha os ecossistemas e a biodiversidade (de Moraes Sá et al., 2017).

Uma forma potencial para diminuir o impacto ambiental negativo pelo uso contínuo de fertilizantes, herbicidas é a utilização de BPCP. Esse termo foi definido pela primeira vez por Kloepper e Schroth (1978) para descrever bactérias do solo que colonizam a rizosfera de plantas, crescendo dentro, sobre ou ao redor de tecidos vegetais, e estimulam o crescimento das plantas por uma série de mecanismos (Basu et al., 2017). Desde então, atividades de pesquisa voltadas à compreensão de como essas bactérias desempenham seus efeitos positivos tem aumentado constantemente, e trabalhos sobre microrganismos vêm sendo publicados (Bashan, 2006; Hungria, 2011; Pérez-Montano, 2014; Ferreira, M. Soares, V. Soares, 2019). Atualmente, as BPCP consistem em um grande grupo de microrganismos rizosféricos, que vivem e interagem com as plantas, melhorando seu crescimento (Gupta et al., 2018), estas são parte indispensável do ecossistema e sua presença é benéfica para o crescimento vegetal.

Quanto aos tipos de associação bactéria-hospedeiro e suas as formas de colonização, os BPCPs podem ser classificados como: 1) BPCPs de vida livre ou rizósfericas, que corresponde a bactérias encontradas principalmente na rizosfera ou em inter-espacos do córtex radicular, e são classificadas como bactérias de vida livre (Cassetari et al., 2016). Esse grupo é representado principalmente pelas bactérias do gênero *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Derxia* e *Azotobacter* (Reis et al., 2018); e 2) BPCPs endofíticas, às quais colonizam os tecidos internos das plantas,

sem ocasionar sintoma de patogenicidade, podendo acabar por produzir ou não estruturas externas visíveis (no caso das bactérias formadoras de nódulos) (Kwak et al., 2012); os principais gêneros de BPCPs endofíticas consistem *Herbaspirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azoarcus*, *Gluconobacter*, *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Mais recentemente, a classificação BPCP na literatura foi refinada, incluindo apenas espécies que satisfazem duas das três condições a seguir: colonização agressiva, estímulo ao crescimento das plantas e biocontrole de organismos patogênicos (Bhattacharyya; Jha, 2012).

Quanto aos tipos de associação bactéria-hospedeiro e suas as formas de colonização, os BPCPs podem ser classificados como: 1) BPCPs de vida livre ou rizósfericas, que corresponde a bactérias encontradas principalmente na rizosfera ou em inter-espacos do córtex radicular, e são classificadas como bactérias de vida livre (Cassetari et al., 2016). Esse grupo é representado principalmente pelas bactérias do gênero *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Derxia* e *Azotobacter* (Reis et al., 2018); e 2) BPCPs endofíticas, às quais colonizam os tecidos internos das plantas, sem ocasionar sintoma de patogenicidade, podendo acabar por produzir ou não estruturas externas visíveis (no caso das bactérias formadoras de nódulos) (Kwak et al., 2012); Os principais gêneros de BPCPs endofíticas consistem *Herbaspirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azoarcus*, *Gluconobacter*, *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Mais recentemente, a classificação BPCP na literatura foi refinada, incluindo apenas espécies que satisfazem duas das três condições a seguir: colonização agressiva, estímulo ao crescimento das plantas e biocontrole de organismos patogênicos (Bhattacharyya; Jha, 2012).

A contribuição positiva no crescimento de plantas pelo emprego de microrganismos BPCP ocorre por uma série de mecanismos de ação, e assim, as bactérias podem ser classificados de acordo com sua função: Biofertilizantes (promovem o aumento da oferta de nutrientes, como NH_4^+ , SO_4^{2-} ou H_2PO_4^-); Bioestimuladoras (capazes de produzir fitohormônios promotores do crescimento vegetal ou regular a síntese de etileno na planta), ou Bioprotetoras (sintetizando antibióticos ou enzimas antifúngicas que controlam populações patogênicas, atenuação de estresses bióticos e abióticos) (Ferreira; Soares; Soares, 2019). Gêneros bacterianos específicos como *Bacillus* sp., *A. brasilense*, *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp. e *Pantoea* sp., podem atuar em dois ou até três mecanismos de ação, se inserindo como BPCPs potenciais para uso como inoculantes comerciais na agricultura (Ferreira; Soares; Soares, 2019).

As BPCPs além de eficazes na degradação de compostos poluentes, auxiliam diretamente na solubilização de fósforo, fixação biológica de N-atmosférico, produção de fitormônios de crescimento, melhorando assim a nutrição vegetal, e desse modo os teores de nitrato e amônio nas folhas, proporcionando uma planta mais vigorosa e consequentemente, mais produtiva (Denton, 2007; Galindo et al, 2016). Na literatura, diversos trabalhos demonstram a viabilidade do emprego de BPCPs na agricultura (Bashan et al., 2006; Hungria, 2011; Pérez-Montano et. al, 2014; Ferreira, Soares e Soares, 2019), porém, pesquisas que visam uma inoculação múltipla, ou combinada (três ou mais bactérias conjuntas), onde os benefícios dos principais gêneros PGPR se somam em uma mesma cultura, são escassos. Rahman et al. (2002) consideram que os consórcios de bactérias são eficientes, pois cada parceiro pode realizar diferentes partes da rota de degradação catabólica, como um sinergismo BPCPs-hospedeiro, trazendo assim uma soma de resultados, sendo a maioria ainda não desvendados nos principais cereais cultivados.

Bactérias como as do gênero *Bacillus sp.* são capazes de formar um biofilme muito forte e estável na rizosfera, constituído por uma comunidade bacteriana multicelular coberta por uma matriz auto secretada (Beauregard et al., 2013), e dessa forma conferem ao hospedeiro vegetal tolerância à estresses bióticos e abióticos (como stress hídrico, ataque de nematoides, competição por plantas daninhas), sintetizam metabólitos que promovem o crescimento vegetal (AIA, giberelinas, citocininas, ACC-disseminases), melhoram a eficiência de formas nitrogenadas (NO_2^- , NH_4^+) e ureídeos, bem como, previnem a infecção de patógenos, pela síntese de compostos orgânicos voláteis de ação antifúngica e antibiótica (Radhakrishnan et al., 2017). Dessa forma, a implantação de BPCPs em sistemas de produção agrícola para aliviar estresses bióticos e abióticos se insere como prática ambientalmente amigável na busca por uma produção de alimentos cada vez mais sustentável (Vejan et al., 2016).

Entre os BPCPs, *Pseudomonas fluorescens* é uma das mais promissoras, devido suas características de rápido crescimento, simples requisitos nutricionais, alta mobilidade e capacidade de utilizar diversos substratos orgânicos (Dorjey; Dorkai e Sharma, 2017). *Pseudomonas fluorescens* constituem rizo-bactérias gram-negativas, aeróbicas, móveis com auxílio de flagelos polares, e têm a capacidade de produzir pigmento verde amarelo solúvel em água. Altamente adaptadas à rizosfera, apresentam uma rápida taxa de crescimento no rizoplane e são capazes de utilizar um grande número de substratos orgânicos, incluindo exsudatos radiculares (Whipps, 2001).

O fator crucial atribuído ao gênero *Pseudomonas sp.* como sucesso de controle biológico, é graças sua capacidade de colonizar e persistir na rizosfera, tanto ao longo da estação de crescimento, bem como quando são reintroduzidos em raízes por meio da inoculação de sementes ou inóculos naturais, colonizando profundamente a superfície da raiz, e exercendo importante efeito protetor sobre esta através do antagonismo contra fungos e bactérias fitopatogênicos (VanLoon et al., 1998). Para Suneesh (2004), o mecanismo de biocontrole envolve a ativação e síntese de aleloquímicos bacterianos, incluindo antibióticos, sideróforos quelantes de ferro (Fe), bem como metabólitos antifúngicos (piroluteorina, pirrolnitrina e fenazinas).

Dentre os mecanismos de ação envolvidos na promoção do crescimento vegetal e biofertilização, a produção de substâncias como IAA, Citocininas e ACC-disseminases foi reportada (Suneesh, 2004; Berta et al., 2014). Rashid et al (2012) e Subramanian et al. (2014) isolando e caracterizando endofíticos envolvidos na promoção de plantas, verificaram a capacidade da síntese de amônio (NH_4^+) e solubilização de fosfato, por meio do gênero *Pseudomonas sp.* Além disso, a produção de HCN, e o comportamento antagônico em vários patógenos vegetais de importância econômica, como *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum* e *Fusarium udum* também foram descritos (Sulochana et al., 2014).

A resposta positiva a inoculação por *Pseudomonas spp.* foi analisada em uma série de culturas de interesse agrônomo, dentre as principais, arroz, trigo e tomate, onde foram relatados aumento da concentração de Fe (Nagata, 2017), incremento de parte aérea vegetal (García de Salamone et al., 2012), resiliência à seca (Pourbabaee et al., 2018), e aumento no rendimento de grãos (Gopalakrishnan et al., 2017). De forma similar, Oliveira et al. (2012a) verificaram aumento em 22,4% na produtividade de grãos de milho com aplicação de 250 kg ha^{-1} do formulado 08-28-16 e aumento nos teores de P e K nos grãos em 24,8 e 10,7% (Oliveira et al., 2012b), respectivamente.

Muitos microrganismos do solo foram propostos como BPCPs promissores para culturas agrícolas, considerando suas propriedades fito-benéficas (Tiwari et al., 2016), tolerância aos estresses abióticos (Pourbabaee et al., 2018). As bactérias do gênero *Bacillus* se inserem como os residentes microbianos mais abundantes do solo, com presença universal, e que desenvolveram eficientes mecanismos PGPR.

O *Bacillus spp.* são bactérias gram-positivas em forma de bastonete, móveis no solo, obrigatoriamente ou facultativamente aeróbias, dotadas de hastes formadoras de esporos (Xu;

Cote, 2003). Capazes de sobreviver em diferentes nichos, incluindo condições ambientais extremas como temperatura, pH, e solos salinos, desenvolveram características fisiológicas distintas como parede celular de múltiplas camadas, formação de endósporos, secreção de moléculas de sinal-peptídeo, antibióticos e enzimas extracelulares (Brito et al., 2017). Descobertas em 1835 por Christian Gottfried Ehrenberg por sua alta diversidade ribossômica 16S, estas bactérias atuam singularmente em mecanismos diretos e indiretos que melhoram e promovem o crescimento das plantas e sua produtividade, mesmo sob condições ambientais diversas.

Dentre estes, a FBN atmosférico ocorre por *Bacillus spp.*, graças a presença de genes estruturais designados “genes da Nitrogenase (*nifH*)”, envolvidos tanto na síntese da proteína Fe- hemoglobina, quanto na biossíntese do cofator Fe-molibdênio, para doação de elétrons e regulação das proteínas que atuam na formação da enzima Nitrogenase (Padda et al., 2017).

Além do N, a biofertilização envolve a solubilização de nutrientes, convertendo-os para formas solúveis no solo, entre estas H_2PO_4^- , K^+ e Zn^{2+} (Kim et al., 2017). Essas bactérias, incluindo *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, e *B. subtilis* secretam vários ácidos orgânicos, dentre eles ácido oxálico, acético, málico e malônico, para solubilizar os nutrientes do solo, melhorando sua disponibilidade na rizosfera (Kim et al., 2017; Satyaprakash et al., 2017), e consequentemente, sua disponibilidade para as plantas. Calvo et al. (2016), avaliando inoculante com quatro estirpes de *Bacillus spp.*, observaram incrementos no crescimento e nas concentrações nutricionais (N, P e K) na cultura do milho, demonstrando o potencial do *Bacillus sp.* na nutrição e promoção do crescimento de plantas. Em vista disso, isolados de *B. subtilis* e *B. aryabhattai* extraídos da rizosfera do milho, relataram potencialmente eficientes na solubilização de Zn^{2+} insolúvel, melhorando sua biodisponibilidade no solo (Park et al., 2017).

Microrganismos BPCPs são identificados pela produção de vários fito-hormônios dentre estas auxinas, citocininas, e ácido giberélico como metabólitos secundários (Bashan et al., 2004; Tiwari et al., 2016). Muitos BPCPs, incluindo *Bacillus sp.*, produzem e modulam níveis de fitormônios endógenos das plantas, regulando assim o equilíbrio hormonal vegetal e sua resposta aos estresses bióticos e abióticos (Pourbabaee et al., 2018). Análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa com *Bacillus aryabhattai* SRB02 demonstrou significativa produção de quantidades de AIA, citocinina, ácido abscísico e ácidos giberélicos pela bactéria em meio de cultura (Park et al., 2017), comprovando seu papel na bioestimulação vegetal.

Abdallah et al. (2018) em ensaio in vitro com plântulas de tomate inoculados com *B. amyloliquefaciens*, estudando a promoção do crescimento, níveis de AIA, e FBN, observaram que as plântulas inoculadas resultaram em 36,3 e 27,2% de incremento no comprimento de raízes e brotos, respectivamente, além do aumento da massa fresca da raiz e da parte aérea. A resposta positiva a inoculação por *Bacillus sp.* foi analisada em uma série de culturas de interesse agrônomo, dentre essas feijão (Sabaté et al., 2017), banana (Kesaulya et al., 2018), girassol (Pourbabaee et al., 2018), e tomate (Akram et al., 2015) com resultados positivos, como: aumento da biomassa (Akram et al., 2015; Pourbabaee et al., 2018; Sabaté et al., 2017), incremento na atividade da clorofila e teores de Fe-foliar (Pourbabaee et al., 2018), além da maior resistência a patógenos vegetais (Kesaulya et al., 2018; Sabaté et al., 2017) pela inoculação de *Bacillus sp.* como promotor do crescimento de plantas, e seus benefícios ao meio ambiente, e no aumento da produtividade das culturas.

Dentre as bactérias designadas promotoras de crescimento de plantas, não nodulíferas, e com capacidade de FBN, *Azospirillum sp.* se inserem como um dos BPCPs na literatura científica mundial, conhecidas por resultados de promoção do crescimento, em diversas culturas (Bashan; de-Bashan, 2010). Isolada e relatada pela primeira vez em 1978, as bactérias do gênero *Azospirillum sp.* ocorrem em formato de haste curva, gram-negativas, são microaerofílicas (Mehnaz, 2014), e tem chamado atenção dos pesquisadores por sua capacidade de colonizar plantas em diferentes ecossistemas, desde regiões tropicais até locais com temperaturas abaixo de 0 °C.

Durante muitas décadas apenas cinco espécies foram descritas, dentre elas *A. brasilense* e *A. lipoferum* foram as primeiras e, portanto, as mais estudadas (Kaneko et al., 2010). Recentemente, dez novos gêneros foram descritos na literatura (Bashan et al., 2006), compondo um total de 15 spp. catalogadas, das quais, nenhuma linhagem é relatada como patógeno humano ou vegetal, sendo assim, considerada a bactéria mais segura que pode ser usada como biofertilizante e bioestimulante em nível comercial (Mehnaz, 2014), especialmente para cereais ou gramíneas, incluindo trigo e arroz, de ampla importância socioeconômica.

De acordo com Cássan e Diaz-Zorita (2016), plantas inoculadas com cepas de *Azospirillum sp.* promovem aumento no número e comprimento-diâmetro dos pelos radiculares e raízes laterais, surtindo maior absorção de água e nutrientes, em especial o nitrogênio, o que melhora a nutrição vegetal, e conseqüentemente, a produtividade e qualidade dos grãos. Um dos mecanismos mais importantes à promoção vegetal por *Azospirillum* é dada sua capacidade

de FBN, atuando como um filtro de nitrogênio “freeliving” que não produz nódulos, caracterizando-a como “bactéria não específica promotora do crescimento de plantas” (Bashan et al., 2006). *Azospirillum sp.* ocorre em abundância na rizosfera, permanecendo na superfície da raiz em estreita associação com a planta, fixando N biologicamente, alterando os teores de NO_3^- e NH_4^+ , além de promover a síntese de fitormônios do crescimento (Bashan; de-Bashan, 2010; Dorjey; Dorkai; Sharma, 2017).

Mecanismos envolvidos na síntese de compostos que atuam na promoção vegetal foram relatados por *Azospirillum sp.* como IAA (Sahoo et al., 2014), cinetina (Tien et al., 1979), ácido abscísico (Cassan et al., 2009), zeatina (Sahoo et al., 2014), ácido giberélico (Sahoo et al., 2014), e aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) (Kaneko et al., 2010) importantes na regulação da divisão celular e níveis de etileno, formação de raízes e taxa de xilema; Aumentam a fotossíntese e a produção de vários metabólitos que atuam no estresse biótico vegetal (Bashan; de-Bashan, 2010). Também foram relatados, por cepas de *Azospirillum sp.*, capacidade de solubilizar PO_4^{2-} na região rizósferica (Rodriguez et al., 2004), e sintetizar moléculas com atividade antimicrobiana como HCN bacteriocina e ácido fenilacético (Sahoo et al., 2014), reunindo assim, vários mecanismos que atuam no crescimento e desenvolvimento de plantas.

Para Bashan e de-Bashan (2010), esses mecanismos atuam em conjunto, e se encaixam na “Teoria dos mecanismos múltiplos”, onde a promoção do crescimento vegetal não se deve a um mecanismo único, pelo contrário, é oriunda da combinação de vários mecanismos de ação, tidos por um único BPCP (*Azospirillum sp.* exemplo), ou advindos da combinação de diferentes mecanismos de ação advindos em cada caso de inoculação (três ou mais BPCPs simultâneos), tidos por uma coinoculação múltipla, por exemplo.

Para Denton (2007), consórcios de bactérias se inserem como o próximo passo nas pesquisas com biofertilização vegetal, pois as bactérias-BPCP, além de promoverem o crescimento das culturas, auxiliam na degradação de compostos poluentes, e muitas vezes atuam diretamente produzindo hormônios, fixando nitrogênio atmosférico, solubilizando P ou secretando sideróforos. Lucas et al. (2009) observaram efetividade na inoculação combinada com cepas de *P. fluorescens* e *Chryseobacterium balustinum* no arroz, onde, a inoculação isolada de cada cepa atenuou os danos iniciais de Brusone (*Magnaporthe grisea*) na cultura, mas, foi o tratamento da combinação de ambas as cepas que se mostrou o mais eficaz, atingindo 50% de proteção contra a doença. Ainda, segundo os pesquisadores, uma relação sinérgica entre

proteção e aumento da produtividade e qualidade do arroz foi encontrada, pela coinoculação de *P. fluorescens* e *Chryseobacterium balustinum*.

Rahman et al. (2002) postularam que consórcios bacterianos são eficientes na biossíntese dos compostos vegetais, pois cada microrganismo BPCP pode realizar diferentes partes da rota de degradação metabólica, atuando em conjunto na promoção vegetal, como descoberto mais tarde, segundo a Teoria dos mecanismos múltiplos (Bashan; de-Bashan, 2010). Ardakani et al. (2011) constataram efeito sinérgico e aumento da eficiência de absorção de N, P e K na cultura do trigo pela inoculação de *Azospirillum brasilense* e *Bacillus subtilis* isoladamente, e também pela coinoculação de *Azospirillum* e micorrizas. Contudo, estes pesquisadores relataram um impacto adverso ao adicionar a bactéria *Streptomyces* sp., principalmente sobre a micorriza, justificando maiores pesquisas acerca da associação entre BPCPs, e suas possíveis combinações.

Schultz et al. (2012), estudando a inoculação com diversos microrganismos associados (*Herbaspirillum seropedicae* + *H. rubrisubalbicans* + *Gluconacetobacter diazotrophicus* + *A. amazonense* + *Burkholderia tropica*) concluíram que o consórcio de bactérias diazotróficas promoveu incremento em produtividade na cultura da cana-de-açúcar (cultivar RB867515) similar à adição de 120 kg ha⁻¹ de N fertilizante. No entanto, pesquisas com coinoculações múltiplas (4 BPCPs simultaneamente) e suas combinações, com resultados em culturas graminíferas como a soja são escassos na literatura brasileira e internacional, evidenciando a necessidade de pesquisas com coinoculações múltiplas.

2.2. A RIZOSFERA COMO MEIO PARA INTERAÇÃO DE COMUNIDADES MICROBIANAS COM ESPÉCIES VEGETAIS

Estudada desde 1904 por Lorenz Hiltner – trabalhos pioneiros - que buscava descrever especificamente a interação entre bactérias e raízes de leguminosas (Sugiyama et al., 2014), a rizosfera hoje pode ser definida como ‘a região do solo que está no campo de ação ou influência de uma raiz, onde raízes de plantas, solo e biota do solo interagem entre si’ (Lynch; Leij, 2012). É rica em concentração de nutrientes e microrganismos, exibindo atividades biológicas e químicas intensas comparada ao solo não rizosférico (NR) (Prashar et al., 2014). Sua espessura pode variar de alguns milímetros a vários centímetros, dependendo das condições do tipo de solo e bioma vegetal colonizado (Jones et al., 2009). A seleção de microrganismos na rizosfera

da soja - e outras plantas - é realizada por trocas moleculares, exsudadas na forma de enzimas, alcalóides, glicosídeos e exometabólitos, atuando como força motriz para a instalação de populações microbianas ativas e aprimoradas na zona da raiz (Grayston et al., 1996). Envolvidos na regulação fito-hormonal do crescimento e desenvolvimento de plantas, os exsudatos facilitam as interações na rizosfera por meio de trocas específicas de sinais, permitindo o reconhecimento e servindo como fonte de energia para os parceiros microbianos nas interações vegetais (Bais et al., 2001; Venturi; Keel, 2016).

Capazes de modificar o ambiente rizosférico, exsudatos atuam selecionando microrganismos benéficos - bactérias fixadoras de N, fungos epífitos micorrízicos - e prevenindo ataques patogênicos, o que por sua vez, interferem ativamente na estrutura da comunidade microbiana do solo (Nardi et al., 2000, Sanon et al., 2009).

A seleção de microrganismos rizosféricos pela cultura da soja não é diferente, compreendendo uma comunidade microbiana específica, que seleciona sua rizosfera com base em características funcionais, relacionadas aos benefícios do rizoplane, como promoção do crescimento (Mendes et al., 2014), e nutrição - metabolização e transporte de N, PO_4^{3-} , K^+ , SO_4^{2-} , Fe^{2+} , e Zn^{2+} (Zarei et al., 2011; Shober et al., 2014; Sugiyama et al., 2014, Park et al., 2017). Yan et al. (2017), estudando o impacto da diversidade microbiana do solo na seleção de comunidades bacterianas, demonstraram que as interações entre espécies bacterianas do mesmo táxon foram maiores e grupos de genes funcionais específicos mais representativos em amostras de solo rizosférico com *J. vulgaris*, comparadas ao solo não rizosférico. Buensanteai et al. (2008) verificaram que *Bacillus amyloliquefaciens* cepa KPS46 em simbiose com a soja ativa a síntese de 20 proteínas extracelulares, que elicitam o crescimento de plantas e a indução da resistência sistêmica. Estudos semelhantes realizados por Kim et al. (2015) demonstraram que os compostos orgânicos voláteis (COV) da cepa JS de *Bacillus subtilis* incrementaram a expressão de genes relacionados às vias da fotossíntese, na cultura do tabaco (*Nicotiana L.*). Não obstante, Ali et al. (2020) analisando isolados da rizosfera de soja e gramíneas cultivadas por sequenciamento parcial 16S rRNA e cromatografia revelaram a presença de *Pseudomonas aeruginosa* FB2 como produtoras de exsudatos antibióticos (iturinas, surfactinas), AIA, fosfatases (solubilizadoras de P) e ACC-diseminases, indutores do crescimento de plantas, além de suprimir em > 65% a ocorrência de *Fusarium sp.* e *Aspergillus sp.*, patógenos vegetais. Dessa forma, revela-se que tanto os exsudatos radiculares das plantas podem influenciar a diversidade de microrganismos residentes, quanto esses organismos também podem influenciar as plantas. Essa seleção mutualística coincide com a teoria baseada em nichos (Chesson, 2000), indicando

o poder de seleção pelas plantas, e outras variáveis ambientais, na formação de comunidades microbianas, tanto a nível taxonômico, quanto funcional (Tikhonova, 2019).

Os exsudatos radiculares são capazes de modificar o ambiente da rizosfera (Lynch; Leij, 2012), que altera lentamente os microrganismos do solo para apoiar o estabelecimento de bactérias. A BPCP estabelecida, passa a realizar trocas moleculares na rizosfera para nutrição e/ou biocontrole do hospedeiro vegetal, alterando as propriedades e a estrutura de comunidades microbianas do solo (Sanon et al., 2009). Dessa forma, compreender as reais contribuições de BPCPs na rizosfera para incrementos na nutrição, sanidade e produtividade das culturas é muito importante. No entanto, estudos que revelam a influência de coinoculações ou associações BPCP, atuando conjuntamente na estrutura e diversidade de comunidades microbianas, são escassos. O uso de técnicas moleculares que avaliam a abundância de comunidades na rizosfera de leguminosas, como a soja, são excelentes promessas para um melhor entendimento das interações plantas-BPCPs (Yan et al., 2017; Singh; Gupta, 2018), dentro dos paradigmas de sustentabilidade da produção de alimentos.

2.3. CULTURA DA SOJA E O SUCESSO DA COINOCULAÇÃO COM *Bradyrhizobium* sp. e *Azospirillum brasilense*

A soja a leguminosa mais importante incluída na dieta humana em muitos países, especialmente os emergentes (Pérez-Montañó et al., 2014). Em algumas regiões do mundo, a soja e seus derivados são os únicos ou principais alimentos disponíveis (Bouchenak; Lamri-Senhadji, 2013). Seus grãos são uma excelente fonte proteica, sendo a principal utilizada na alimentação animal, com baixa concentração de gorduras saturadas, e rica em fibras.

Dada sua importância econômica, novas pesquisas com BPCPs e demais bactérias fixadoras de N na cultura da soja, sempre em conjunto com *Bradyrhizobium*, foram desenvolvidas nas últimas décadas (Urquiaga et al., 2005; Bashan et al., 2006; Hungria et al., 2012). A técnica da coinoculação, pela utilização de uma segunda bactéria de forma associativa como complemento da inoculação convencional com rizóbios em leguminosas, vem sendo amplamente estudada, principalmente em associação com o gênero *Azospirillum brasilense* (Hungria et al., 2010; Rodrigues et al., 2012; Galindo et al., 2018).

A coinoculação com *Azospirillum brasilense* na soja (*B. japonicum* + *A. brasilense*) aumentaram a produtividade de grãos na soja na ordem de 19,6%, em relação à inoculação tradicional (Hungria et al., 2013). Galindo et al. (2018), avaliando esta mesma coinoculação

observaram incrementos na produtividade de grãos comparativamente à inoculação convencional (*B. japonicum*) na ordem de 18,1%. Similarmente, Cassã et al. (2009), reportaram maior germinação de sementes, aumento na formação de nódulos e melhoria no desenvolvimento inicial de sementes de soja, inoculadas com cepas *A. brasiliense* AZ39 e *B. japonicum* E109, demonstrando a possibilidade e viabilidade do emprego de combinações BPCPs nas culturas.

Os resultados das pesquisas com coinoculação e o sucesso de *Bradyrhizobium* sp. com *Azospirillum Brasiliense* no cultivo de soja no Brasil, evidenciam a importância de mais estudos para explorar mais benefícios que outras espécies de BPCPs descritas anteriormente podem propiciar. Logo, isso pode evoluir para três ou mais gêneros simultaneamente combinados, ou seja, a coinoculação múltipla ou inoculação combinada”, onde cada microrganismo contribui com parte dos mecanismos de ação das BPCP, atendendo a ‘teoria dos mecanismos múltiplos’ (Bashan e de-Bashan, 2010), e aumentando as possibilidades de associação bactéria-hospedeiro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no período entre 16 de novembro de 2021 à 8 de março de 2022 na área experimental da Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão, que pertence à Faculdade de Engenharia – UNESP, localizada em Selvíria – MS, com altitude de 335m e coordenadas geográficas (20° 22' S, 51° 22' W). O solo da área experimental é classificado como LATOSSOLO VERMELHO Distrófico, textura argilosa, segundo classificação da Embrapa (2018), o qual foi cultivado por culturas anuais por mais de 30 anos, sendo os últimos 15 anos em sistema plantio direto, sendo as culturas anteriores o milho e a soja, respectivamente.

O clima é classificado como tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno, do tipo fundamental Aw (KÖPPEN, 2001), e a temperatura média anual de 23,5 °C, precipitação pluvial média anual de 1370 mm, com umidade relativa do ar média anual entre 70 e 80%.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições, e 12 tratamentos, sendo:

Tipos de inoculação	Tratamentos	Coinoculação de bactérias com tratamento controle (<i>B. Japonicum</i>)
Controle (<i>Bradyrhizobium japonicum</i>)	T1	(ausência de inoculação adicional)
Bactérias isoladas	T2	<i>Azospirillum brasilense</i> (estirpes Ab-V5 e Ab-V6)
	T3	<i>Bacillus subtilis</i> (estirpe CCTB04)
	T4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (estirpe CCTB06)
	T5	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (estirpe CCTB03)
Gram-negativas	T6	<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i>
Gram-positivas	T7	<i>B. subtilis</i> + <i>B. amyloliquefaciens</i>
Gram-positivas + <i>A. brasilense</i>	T8	<i>B. subtilis</i> + <i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasilense</i>
Gram-positivas + <i>P. fluorescens</i>	T9	<i>B. subtilis</i> + <i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>P. fluorescens</i>
Gram-negativas + <i>B. subtilis</i>	T10	<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i> + <i>B. subtilis</i>
Gram-negativas + <i>B. amyloliquefaciens</i>	T11	<i>A. brasilense</i> + <i>P. fluorescens</i> + <i>B. amyloliquefaciens</i>
Coinoculação múltipla com todas BPCPs	T12	<i>A. brasilense</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>P. fluorescens</i>

Cada parcela foi composta por oito linhas de 5 metros, sendo espaçadas por 0,50 m, totalizando 20 m². Foi considerada área útil da parcela as 4 linhas centrais, sendo descontada a bordadura, totalizando assim como área efetiva amostral de 5 m² por parcela. A cultivar utilizada foi a TMG7063, com 18 sementes por metro, a adubação de semeadura foi realizada utilizando a dose de 300 kg ha⁻¹ do fertilizante formulado N-P-K (02-20-20).

Todas as sementes foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080, com garantia de 5×10^9 UFC mL⁻¹), poucas horas antes da semeadura, à sombra, com auxílio de uma betoneira limpa na dose de 200 mL ha⁻¹, na qual foram também incorporados Cobalto e Molibdênio – 1,5% de Co (19,5 g L⁻¹), 19,5% de Mo (195 g L⁻¹). Os inoculantes com BPCPs empregados nos tratamentos adicionais, são de estirpes comerciais já registradas, sendo: *Azospirillum brasilense* estirpes AbV5 e Abv6 (2×10^8 UFC mL⁻¹) à dosagem correspondente de 200 mL ha⁻¹, *Bacillus subtilis* estirpe CCTB04 (CNPS02720, 1×10^8 UFC/mL) à dosagem correspondente de 100 mL ha⁻¹; *Bacillus amyloliquefaciens* estirpe CCTB06 (CNPS03202, 1×10^8 UFC mL⁻¹) à dosagem correspondente de 100 mL ha⁻¹, e *Pseudomonas fluorescens* estirpe CCTB03 (CNPS02719, 1×10^8 UFC mL⁻¹) à dosagem correspondente de 150 mL ha⁻¹.

As inoculações com BPCPs foram realizadas via jato dirigido no sulco de semeadura, com auxílio de bomba costal pulverizadora, respeitando as doses recomendados pelo fabricante em cada uma das misturas de inoculantes (coinoculações) propostas no quadro.

No estágio fenológico R2 (florescimento pleno) foram coletadas a folha diagnose (terceiro trifólio) da soja, as amostras foram embaladas em sacos de papel, identificadas, e encaminhadas à estufa de circulação de ar forçado à 65 °C por cerca de 72 horas. Posteriormente, as amostras secas foram moídas em moinho tipo Wiley, com peneira de 1,00 mm (20 mesh), para à determinação dos teores de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn, conforme metodologia descrita por Malavolta et al. (1997). No estágio fenológico R2, aferiu-se a massa seca de raiz (coleta profunda com solo ao seu redor, e depois lavada sob peneira fina – coleta de dez plantas por parcela); E massa seca e contagem de número de nódulos de *Bradyrhizobium japonicum* no sistema radicular por planta (lavados sobre fina peneira, evitando perda de nódulos).

No ponto de maturação da cultura (R9), foi aferida a altura das plantas, analisando-se dez plantas aleatórias por parcela, medindo a distância (cm) do nível do solo ao ápice da planta. No mesmo estágio, foram coletadas aleatoriamente dez plantas por parcela, para avaliar os componentes produtivos: Número de vagens por planta; Número de grãos por vagem; Número de grãos por plantas; Massa de 100 grãos, determinada em balança com precisão de 0,01 g à 13% de umidade (base úmida); e Produtividade de grãos – estipulada pela coleta das plantas contidas em três linhas da área útil, de cada parcela – determinada após colheita e trilhagem mecânica, extrapolando os dados em kg ha⁻¹, e corrigindo os valores obtidos à 13% de umidade (base úmida).

Os dados das avaliações foram submetidos à análise de variância (teste F) e teste de Scott-Knot à 5% de probabilidade para comparação de médias dos tratamentos, utilizando o programa de análises estatísticas SISVAR (Ferreira, 2019).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas variáveis massa de nódulos (MSNOD) e número de nódulos (NNOD) observou-se incrementos de 216% e 300% nos tratamentos T11 MSNOD e T10 NNOD, em relação tratamento controle (sem coinoculação), respectivamente (Tabela 1). Nas variáveis massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) não houve diferença entre os tratamentos testados. Por outro lado, com relação à altura de plantas (ALT), os tratamentos T2, T4, T6, T8, T10, T11 e T12 tiveram maior altura de plantas em relação aos demais tratamentos.

As coinoculações com bactérias promotoras de crescimento de planta aumentaram a massa e o número de nódulos no sistema radicular da cultura, garantindo maior assimilação de N, essencial para formação de proteínas, fotossíntese, clorofila e aumento da produtividade.

Tabela 1. Componentes biométricos Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR), massa seca dos nódulos (MSNOD), número de nódulos (NNOD) em R2 (florescimento) e altura de plantas (ALT) no momento da colheita (R9) de soja em função das diferentes coinoculações de BPCPs. Selvíria, MS, 2022.

TRATAMENTOS	MSPA g planta ⁻¹	MSR g planta ⁻¹	MSNOD g planta ⁻¹	NNOD n° planta ⁻¹	ALT cm
CONTROLE (T1)	33,16 ^{NS}	8,40 ^{NS}	0,72 b	9,15 b	95,44 b
<i>A. brasilense</i> (T2)	46,90	8,04	1,18 a	20,40 a	106,63 a
<i>B. subtilis</i> (T3)	42,63	6,91	1,47 a	22,95 a	94,94 b
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T4)	52,01	8,72	1,42 a	24,35 a	107,15 a
<i>P. fluorescens</i> (T5)	39,96	7,43	1,37 a	24,50 a	96,56 b
GRAM - (T6)	46,98	8,50	1,49 a	26,60 a	104,75 a
GRAM + (T7)	44,30	7,66	1,30 a	15,90 b	96,81 b
AZO + GRAM+ (T8)	48,64	8,06	1,32 a	23,65 a	106,19 a
PSEUD + GRAM + (T9)	48,82	8,04	1,43 a	25,05 a	99,56 b
B. SUB + GRAM - (T10)	49,60	8,53	1,42 a	27,45 a	105,00 a
B. AMY + GRAM - (T11)	48,23	8,01	1,56 a	27,05 a	103,56 a
TODAS BPCPs (T12)	41,96	6,82	1,35 a	23,85 a	106,63 a
Média geral	45,27	7,93	1,34	22,58	101,93
C.V. (%)	15,40	16,21	11,79	22,72	5,03
Fc	2,22	0,92	7,69	4,22	3,61

Erro Padrão	3,49	0,64	0,08	2,56	2,56
-------------	------	------	------	------	------

MSPA = Massa seca de parte aérea por planta (g); **MSRA** = Massa seca de raiz por planta (g); **MSNOD** = Massa seca dos nódulos por planta (g); **Nº NOD** = Número de nódulos por planta; **ALT** = Altura de plantas. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0.05$). Fc = Valor obtido no cálculo do Teste F.

Incrementos foram verificados pela aplicação de bactérias promotoras do crescimento de plantas nas variáveis nº de vagens por planta (VAGENS), nº de grãos por planta (NGRAOS) e produtividade de grãos (PROD). Por outro lado, a massa de cem grãos (M100), nº de grãos por vagem (GVAGEM) e altura de inserção da primeira vagem (INSERCAO) da soja não diferiram para os tratamentos, nem do tratamento controle (sem coinoculação) (Tabela 2).

Analisando os dados de produtividade de grãos obtidos, observa-se que o tratamento controle (apenas *Bradyrhizobium*) estatisticamente ficou com a menor produtividade obtida pelo teste Scott-Knot. As maiores produtividades foram obtidas sob as coinoculações dos tratamentos T9, T4, T12, T3 e T6, sendo que o tratamento T9 propiciou a maior média observada, produzindo 4255,4 kg ha⁻¹, o que corresponde a 823,61 kg ha⁻¹ ou 13,7 sacas a mais por hectare que o controle (T1) – sem coinoculação. Ao analisarmos os tratamentos que se sobressaíram no teste de Scott-Knot nos componentes VAGENS e GVAGEM, observou-se que são os mesmos que se sobressaíram em PROD, indicando que o aumento da produtividade observado vem de plantas com maior número de vagens.

O aumento no número de vagens pode ser explicado pelos incrementos observados na massa de nódulos e número de nódulos, nos tratamentos T3, T4, T6, T9 e T12, que também foram superiores no teste de médias (Tabela 1). A MSNOD no T9 obteve incremento de 88,2% em relação ao controle (T1), ao passo que o NNOD aumentou 173,8% no tratamento T9 em relação ao controle (Tabela 1). Esses dados demonstram, que as misturas bacterianas coinoculadas T3, T4, T6, T9 e T12 aumentam a produtividade da cultura da soja, com destaque para as coinoculações T9 e T12, usando respectivamente três e quatro BPCPs no sulco de semeadura aplicadas conjuntamente. Tais resultados comprovam que é possível aumentar a produtividade da cultura da soja utilizando mais de duas BPCPs coinoculadas simultaneamente, e melhorar a rentabilidade e eficiência da FBN nesta cultura.

Tabela 2. Massa de 100 grãos (M100), número de vagens por planta (VAGENS), número de grãos por planta (NGRAOS), número de grãos por vagem (GVAGEM), produtividade de grãos (PROD) de soja no momento da colheita (R9) em função das diferentes coinoculações de BPCPs. Selvíria, MS, 2022. (2022).

TRATAMENTOS	M100 g	VAGEN S n° planta ⁻¹	GVAG EM n° vagem ⁻¹	NGRAOS n° planta ⁻¹	INSERC AO cm	PROD kg ha ⁻¹
CONTROLE (T1)	15,61 ^{NS}	30,31 b	2,55 ^{NS}	76,98 b	21,71 ^{NS}	3431,8 c
<i>A. brasilense</i> (T2)	16,46	32,81 b	2,64	84,35 a	21,83	3914,7 b
<i>B. subtilis</i> (T3)	15,32	39,69 a	1,89	73,55 b	18,03	4059,1 a
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T4)	17,14	42,25 a	2,10	87,75 a	20,64	4153,7 a
<i>P. fluorescens</i> (T5)	16,36	38,63 a	1,90	72,40 b	18,31	3907,4 b
GRAM - (T6)	16,92	39,00 a	2,20	84,75 a	21,31	4026,0 a
GRAM + (T7)	15,62	30,81 b	2,15	65,15 b	21,00	3840,2 b
AZO + GRAM+ (T8)	16,55	41,94 a	2,24	89,95 a	19,46	3840,2 b
PSEUD + GRAM + (T9)	16,47	38,00 a	2,34	86,70 a	23,38	4255,4 a
B. SUB + GRAM - (T10)	16,61	44,94 a	1,77	78,95 b	19,81	3887,9 b
B. AMY + GRAM - (T11)	17,98	43,76 a	1,98	73,55 a	20,69	3839,9 b
TODAS BPCPs (T12)	17,17	48,94 a	1,96	94,40 a	21,83	4149,32 a
Média geral	16,52	39,26	2,14	81,53	20,67	3928,6
C.V. (%)	5,52	14,91	21,67	13,20	10,77	5,95
Fc	2,12	0,01	1,33	0,03	1,93	3,73
Erro Padrão	0,46	2,92	0,23	5,38	1,11	116,87

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0.05$). Fc = Valor de F obtido no cálculo do Teste F. **M100** = Massa de 100 grãos, **VAGENS** = n° de vagens por planta, **GVAGEM** = n° de grãos por vagem, **GRS PPL** = n° de grãos por planta, **INSERÇÃO** = altura de inserção da 1ª vagem e **PROD** = produtividade.

Os tratamentos que propiciaram aumento da concentração de Mg foram T12, T11, T10, T8 e T9, respectivamente, em relação aos demais além do controle. O Mg foi o nutriente que resultou em maior padrão de resposta em função das coinoculações empregadas, com três ou mais BPCPs coinoculadas juntas no sulco de semeadura, resultaram em maior concentração de Mg nos trifólios da soja (Tabela 3).

O Mg, considerado o nutriente esquecido por alguns pesquisadores, é o segundo maior ativador enzimático vegetal dentre os nutrientes, além de ser responsável por importantes

processos, como átomo central da molécula de clorofila, como regulação e ativação do transporte de açúcares e fotoassimilados para os grãos, durante o enchimento de grãos, junto com o K (Taiz, Zeiger, 2012).

A maior concentração de K foliar foi observada nos tratamentos T6, T4, T3, T2, T9, T8, T10 e T1 respectivamente em relação aos demais, ou seja, os outros foram menos eficientes em absorção e transporte de K para as folhas, pelo fato do controle estar entre os melhores, (Tabela 3.)

O mesmo ocorreu para o Ca, onde T3, T11, T12, T10, T5, T6, T1, T8, T9, T2 e T4 foram os melhores tratamentos, estando o controle entre os melhores, (Tabela 3.)

O K atua junto com o Mg no transporte de nutrientes dentro da planta, através de proteínas denominadas proteínas *swift* (Heldt, Hans & Birgit, 2011). É considerado o maior ativador enzimático em plantas, responsável por se ligar ao grupo prostético de mais de 90 enzimas, regulando processos intrínsecos da fisiologia nutricional como abertura e fechamento estomático.

As diferentes respostas obtidas entre os tratamentos para os nutrientes K, Ca e Mg podem ser explicadas por uma possível regulação dos teores desses nutrientes da rizosfera, promovida pelas bactérias empregadas. K^+ , Ca^{2+} , e Mg^{2+} competem pelos mesmos sítios de absorção (proteínas transmembrana presentes no sistema radicular, que absorvem os íons K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} e devolvem um próton para o solo). As bactérias empregadas tem sido verificadas na literatura por promover, a solubilização de nutrientes na raiz, principalmente os catiônicos, além de micronutrientes (Hungria et al., 2021). Assim, a sinalização em função da coinoculação aplicada para absorver mais de um nutriente catiônico (exemplo, K^+), gera um desbalanço na rizosfera abrindo espaço para absorver menos ou mais de outro nutriente, que compete pelo mesmo sítio de absorção. Esse fato provavelmente ocorreu nas respostas dos nutrientes K, Ca e Mg, em função da aplicação das diferentes misturas BPCPs, alterando seus teores no tecido foliar da cultura.

Não foi constatado diferença significativa entre as coinoculações para as concentrações foliares de N, P e S na soja, (Tabela 3).

Para todos os tratamentos, o teor de N na folha diagnose ficou acima da faixa considerada adequada, segundo Ambrosano et al. (1997), que varia de 40-54 g kg⁻¹ de N. Os teores de P foliar de todos os tratamentos ficaram dentro da faixa de suficiência, que varia de 2,5-5,0 g kg⁻¹ de P (Ambrosano et al., 1997). Os teores de K na folha diagnose estavam adequados, dentro da faixa de 17-25 g kg⁻¹ de K (Ambrosano et al., 1997). Os teores de Ca foliar

também ficaram dentro do adequado, ou seja, entre 4-20 g kg⁻¹ de Ca (Ambrosano et al.,1997). Semelhantemente os teores de Mg ficaram dentro do adequado, ou seja, entre 3-10 g kg⁻¹ de Ca (Ambrosano et al.,1997). Evidenciou-se que o tratamento 7 promoveu um teor foliar de S na soja abaixo da faixa adequada (2,1-4,0 g kg⁻¹ de S), segundo Ambrosano et al. (1997), os demais tratamentos ficaram dentro desta faixa supracitada.

Tabela 3. Concentrações de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), e enxofre (S) e na folha diagnose da cultura da soja no estágio de pleno florescimento (R2) em resposta as diferentes coinoculações de BPCPs. Selvíria, MS (2022).

TRATAMENTOS	N	P	K	Ca	Mg	S
	g kg ⁻¹					
CONTROLE (T1)	54,67 ^{NS}	2,93 ^{NS}	21,90 a	10,80 a	4,64 b	2,30 ^{NS}
<i>A. brasilense</i> (T2)	56,47	3,40	22,90 a	10,57 a	4,60 b	2,64
<i>B. subtilis</i> (T3)	54,20	3,03	23,20 a	11,97 a	4,34 b	2,24
<i>B. amyloliquefaciens</i> (T4)	58,07	3,30	23,77 a	10,57 a	4,67 b	2,34
<i>P. fluorescens</i> (T5)	58,10	3,30	20,93 b	10,90 a	4,90 b	2,63
GRAM - (T6)	57,33	3,56	24,00 a	10,83 a	4,80 b	2,30
GRAM + (T7)	56,40	3,30	19,00 b	8,00 b	4,16 b	1,84
AZO + GRAM+ (T8)	57,60	3,76	22,23 a	10,70 a	10,57 a	2,54
PSEUD + GRAM + (T9)	57,70	3,76	22,60 a	10,63 a	10,54 a	2,87
B. SUB + GRAM - (T10)	55,73	3,36	21,97 a	11,07 a	10,90 a	2,37
B. AMY + GRAM - (T11)	59,17	3,06	19,97 b	11,33 a	11,20 a	2,44
TODAS BPCPs (T12)	59,17	3,30	20,57 b	11,30 a	11,20 a	2,44
Média geral	57,05	3,34	21,92	10,72	7,21	2,41
C.V. (%)	3,47	19,40	6,75	9,66	1,24	14,53
Fc	1,97	0,50	3,24	2,15	48,38	1,60
Erro padrão	1,15	0,37	0,85	0,60	0,46	0,21

Médias seguidas de letras iguais nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a ** e * 1 e 5% de probabilidade respectivamente, e ^{NS} não significativo.

As maiores concentrações de Cu foram obtidas sob as coinoculações T2, T4, T5, T6, T8, T9, T10, T11 e T12, quando comparado aos demais tratamentos. Porém, as maiores concentrações de Fe foram observadas sob os tratamentos T1, T2 e T4 em relação aos demais tratamentos. Por outro lado, sob os tratamentos T1, T2, T3, T4, T5, T8, T9, T10 e T11 foi observado as maiores concentrações de Mn foliar em relação aos demais. Além disso, foi possível verificar a maior concentração de Zn foliar nas plantas de soja sob os tratamentos T1, T2, T4, T5, T7, T8, T10 e T11 em relação aos outros tratamentos (Tabela 4). As maiores concentrações de Cu e Zn na folha diagnose foram observados nos tratamentos que proporcionaram as maiores produtividades de grãos. Isso pode explicado por um possível “rebalanço” ou correção da disponibilidade na rizosfera, realizada pelas próprias bactérias aplicadas, para solubilizar os nutrientes mais exigidos pela cultura, e aqueles que geralmente nos solos brasileiros encontram-se em alta concentração (como o Ferro), acabam sendo menos absorvidos, diminuindo a competição na rizosfera (Boleta et al., 2020).

Tabela 4. Concentração de boro (B), cobre (Cu), manganês (Mn) e zinco (Zn) na folha diagnose da cultura da soja no estágio florescimento pleno (R2). Selvíria, MS (2022).

TRATAMENTOS	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- mg kg ⁻¹ -----				
CONTROLE (T1)	32,34	18,33 b	230,67 a	208,67 a	27,00 a
AZO (T2) -	34,67	20,00 a	208,34 a	176,67 a	30,00 a
BAC SUB (T3) +	33,67	17,00 b	164,00 b	184,00 a	16,67 b
BAC AMY (T4) +	30,34	21,34 a	222,00 a	180,00 a	25,34 a
PSEUD (T5) -	28,67	23,00 a	183,34 b	175,67 a	30,00 a
GRAM - (T6)	30,34	23,34 a	172,00 b	136,67 b	29,34 b
GRAM + (T7)	33,67	17,67 b	140,00 b	128,00 b	18,67 a
AZO + GRAM+ (T8)	26,34	22,00 a	164,00 b	168,00 a	26,00 a
PSEUD + GRAM + (T9)	27,67	23,00 a	155,34 b	166,00 a	22,34 b
BAC SUB + GRAM - (T10)	34,00	22,00 a	166,68 b	167,00 a	24,33 a
BAC AMY + GRAM - (T11)	31,34	21,34 a	166,34 b	167,00 a	27,33 a
TODAS BPCPs (T12)	32,34	20,33 a	177,67 b	151,34 b	20,33 b
Média geral	31,28	20,78	179,36	167,41	24,78
C.V. (%)	9,58	6,78	9,72	11,07	14,76
Fc	2,39	6,98	7,40	4,01	4,44
Erro padrão	1,73	0,81	10,06	10,70	2,12

Médias seguidas de letras iguais nas colunas pertencem ao mesmo nível pelo teste de Scott-Knott a ** e * 1 e 5% de probabilidade respectivamente, e ^{ns} não significativo.

Os teores de B na folha diagnose estavam adequados para os tratamentos (21-55 mg kg⁻¹ de B), conforme Ambrosano et al. (1997). Os teores foliares de Cu e Fe também ficaram dentro da faixa adequada, segundo Ambrosano et al. (1997), as quais são 10-30 mg kg⁻¹ de Cu e 50-350 mg kg⁻¹ de Fe. Por outro lado, os teores foliares de Mn ficaram todos acima da faixa de suficiência que é de 20-100 mg kg⁻¹ de Mn. Por outro lado, o teor foliar de Zn ficaram dentro da faixa adequada descrita por Ambrosano et al. (1997), as quais são e de 20-50 mg kg⁻¹ de Zn, com exceção dos tratamentos T3 e T7, que proporcionam baixos teores de Zn na folha diagnose (Tabela 4).

5. CONCLUSÕES

Misturas de bactérias BPCPs no sulco de semeadura são efetivas no aumento da produtividade da cultura da soja, com destaque para os tratamentos T9, T4, T12, T3 e T6 respectivamente, sendo o T9 (*Pseudomonas fluorescens* + *Bacillus subtilis* + *Bacillus amyloliquefaciens*) o melhor entre eles, que resultou em um incremento de 13,7 sacas por hectare na cultura da soja cultivada a campo.

Todas as coinoculações aumentaram a massa e o número de nódulos em relação ao tratamento controle (sem coinoculação).

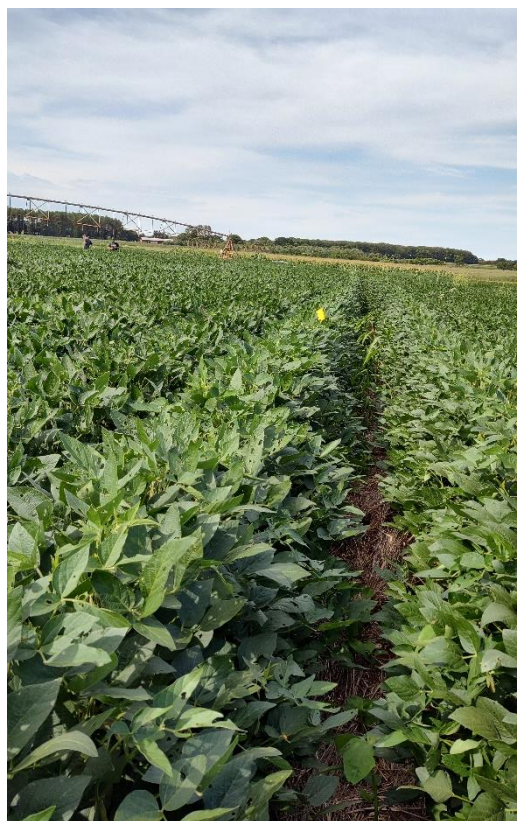
Para concentração dos macronutrientes K, Ca e Mg os melhores foram T6, T4, T3, T2, T9, T8, T10 e T1 para K, respectivamente. T3, T11, T12, T10, T5, T6, T1, T8, T9, T2 e T4, para Ca, respectivamente. T8, T9, T10, T11 e T12 para Mg, respectivamente. Provavelmente ocorreu uma regulação do balanço entre esses íons na raiz. O mesmo ocorre para os micronutrientes catiônicos, com aumento das concentrações de Cu e Zn, e redução da concentração de Fe na folha diagnose da soja.

FOTOS

Anexo 1. Imagens da preparação, semeadura e aplicação dos tratamentos.
16 de novembro de 2021. (Fotos Tiradas pelo Autor).



Anexo 2. Imagens do estande pós emergência e desenvolvimento das plantas.
Novembro 2021 a janeiro 2022 (Fotos Tiradas pelo Autor).



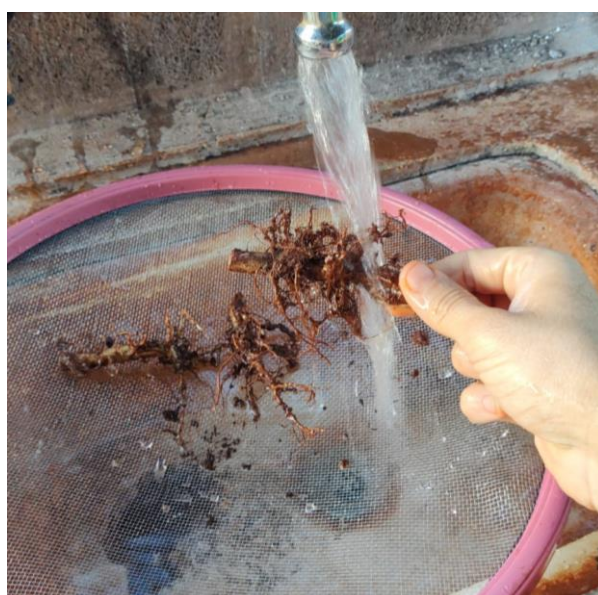
Anexo 3. Imagens das plantas em R6 (vagem cheia). 02 de fevereiro de 2022. (Fotos tiradas pelo Autor).



Anexo 4. Imagens das plantas em R8 (Maturação Plena) e Colheita.
08 de março de 2022. (Fotos Tiradas pelo Autor)



Anexo 5. Imagens das avaliações dos componentes produtivos e biométricos. 09 de março de 2022. (Fotos Tiradas pelo Autor).



Anexo 6. Imagens das análises nutricionais realizadas no Laboratório de Nutrição de Plantas – FEIS UNESP. Abril de 2022. (Fotos Tiradas pelo Autor).



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH DB, FRIKHA-GARGOURI O, TOUNSI S. *Rizhospheric competence, plant growth promotion and biocontrol efficacy of Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum strain 32a*. **Biol. Control**, 2018;124:61-67.
- ALI, S.; HAMEED, S.; SHAHID, M.; IQBAL, M.; LAZAROVITS, G.; IMRAN, A. Functional characterization of potential PGPR exhibiting broad-spectrum antifungal activity, **Microbiological Research**, v.232, 126389,ISSN 0944-5013, 2020.
- ARDAKANI MR, MAZAHARI D, MAFAKHERI S, MOGHADDAM A. Absorption efficiency of N, P, K through triple inoculation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by *Azospirillum brasilense*, *Streptomyces* sp., *Glomus intraradices* and manure application. **Physiology Molecular Biology of Plants**, 2011;17:181-192.
- ALLARD S, UTLEY RT, SAVARD J, CLARKE A, GRANT P, BRANDL CJ, PILLUS L, WORKMANJL, CÔTÉ J. NuA4, an essential transcription adaptor/histone H4 acetyltransferase complex containing Esa1p and the ATM-related cofactor Tra1p. **EMBO J** 18(18):5108-19
- BHATTACHARYYA PN, JHA DK. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World J Microbiol Biotechnol** 2012;28:1327–50. 1999.
- BAIS, H.P., LOYOLA-VARGAS, V.M., FLORES, H.E., VIVANCO, J.M., 2001. Invited review: rootspecificmetabolism: the biology and biochemistry of underground organs. *In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant* 37, 730 – 741.
- BASHAN Y, DE-BASHAN LE. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Adv. Agron.** 2010;108:77-136.
- BASHAN, Y.; BUSTILLOS, J. J.; LEYVA, L. A.; HERNANDEZ, J. P.; BACILIO, M. Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 42, n. 4, p. 279-285, 2006.
- BASHAN Y, HOLGUIN G, DE-BASHAN LE. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances (1997-2003). **Canadian J. Microbiology**, 2004;50:521-577.
- BASU, S., RABARA, R., NEGI, S., 2017. Towards a better greener future - an alternative strategy using biofertilizers. In: plant growth promoting bacteria. **Plant Gene** 12, 43 –49. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.07.004>.
- BEAUREGARD, P.B., CHAI, Y.R., VLAMAKIS, H., LOSICK, R., KOLTER, R., 2013. *Bacillus subtilis* biofilm induction by plant polysaccharides. In: **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, pp. E1621–E1630.
- BERTA, G., COPETTA, A., GAMALERO, E., BONA, E., CESARO, P., SCARAFONI, A., D'AGOSTINO, G. Maize development and grain quality are differentially affected by mycorrhizal

- fungi and a growth-promoting pseudomonad in the field. **Mycorrhiza** 24, 161 –170. 2014 <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0523-x>.
- BOUCHENAK M, LAMRI-SENHADJI M. Nutritional quality of legumes, and their role in cardiometabolic risk prevention: a review. **J Med Food** 2013;16:195–8.
- BRITO, P.H., CHEVREUX, B., SERRA, C.R., SCHYNS, G., HENRIQUES, A.O., PEREIRA-LEAL, J.B., 2017. Genetic competence drives genome diversity in *Bacillus subtilis*. **Genome Biol. Evol.** 10 (1), 108–124.
- BUENSANTEAI, N., ATHINUWAT, D., CHATNAPARAT, T., YUEN, G., PRATHUANGWONG, S., 2008. Extracellular proteome of *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 and its effects on enhanced growth promotion and induced resistance against bacterial pustule on soybean plants. **Kasetsart J. Nat. Sci.** 42, 13 –26.
- CALVO P, WATTS DB, KLOEPPER JW, TORBERT HA. Effect of microbial based inoculants on nutrient concentrations and early root morphology of corn (*Zea mays*). **Plant Nutr. Soil Sci.**, 2017;180:56–70.
- CASSETARI AS, GOMEZ PM, SILVA MCP. Fixação biológica de nitrogênio associativa e de vida livre. In: Cardoso EJN, Andreote FD, editores. **Microbiologia do Solo**. 2. ed. Piracicaba: Divisão de Biblioteca – DIBD/ESALQ/USP, 2016. p. 133-147.
- CASSÁN F, PERRIG D, SGROY V, MASCIARELLI O, PENNA C, LUNA V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). **Eur J Soil Biol** 2009;45:28–35.
- CHESSON, P. 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** v.31, p.343–366.
- DE MORAES SÁ, J.C.; LAL, R.; CERRI, C.C.; LORENZ, K.; HUNGRIA, M.; DE FAGGIO CARVALHO, P.C. Low-carbon agriculture in South America to mitigate global climate change and advance food. **Environment International**. v.98, p. 102-112, 2017, ISSN 0160-4120. doi.org/10.1016/j.envint.2016.10.020.
- DENTON B. Advances in phytoremediation of heavy metals using plant growth promoting bacteria and fungi. **MMG 445 Basic Biotechnol** 2007;3:1–5
- DORJEY S.; DOLKAR, D.; SHARMA, R. Plant Growth Promoting Rhizobacteria *Pseudomonas*: A Review. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.** 6(7): 1335-1344. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.160> 2017.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3ª ed. Brasília, DF: EMBRAPA, 2013. 353p

- FERREIRA, M.H.C.; SOARES, M.V.M.H.; SOARES, E.V. Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial safety aspects, **Science of The Total Environment**, Volume 682, 2019, Pages 779-799, ISSN 0048-9697.
- FERREIRA, Daniel Furtado. 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, dec. 2019.
- GARCÍA DE SALAMONE, I.E., FUNES, J.M., DI SALVO, L.P., ESCOBAR-ORTEGA, J.S., D'AURIA, F., FERRANDO, L., FERNANDEZ-SCAVINO, A., 2012. Inoculation of paddy rice with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: impact of plant genotypes on rhizosphere microbial communities and field crop production. **Appl. Soil Ecol.** 61, 196 –204. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.12.012>
- GARCIA, M.V.C., NOGUEIRA, M.A. & HUNGRIA, M. *Combining microorganisms in inoculants is agronomically important but industrially challenging: case study of a composite inoculant containing Bradyrhizobium and Azospirillum for the soybean crop*. **AMB Expr** 11, 71 (2021).
- GALINDO FS, TEIXEIRA FILHO MCM, BUZETTI S, LUDKIEWICZ MGZ, ROSA PAL, TRITAPEPE C A. 2018 Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **R. Bras. Eng. Agr. Amb.** 2018; 22:51-56
- GALINDO FS, TEIXEIRA FILHO MCM, BUZETTI S, SANTINI JMK, ALVES CJ, NOGUEIRA LM, LUDKIEWICZ MGZ, ANDREOTTI M, BELLOTTE JLM. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **R. Bras. Ci. Solo**, 2016; 40:e015036.
- GOPALAKRISHNAN, S., SRINIVAS, V., SAMINENI, S. Nitrogen fixation, plant growth and yield enhancements by diazotrophic growth-promoting bacteria in two cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Biocatal. Agric. Biotechnol.** 11, 116 –123. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.06.012>. 2017.
- GRAYSTON, S.J., VAUGHAN, D., JONES, D., 1996. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. **Appl. Soil. Ecol.** v.5, p.29-56.
- GUPTA, S., KAUSHAL, R., SOOD, G., 2018. Impact of plant growth –promoting Rhizobacteria on vegetable crop production. **Int. J. Veg. Sci.** 24, 289 –300. <https://doi.org/10.1080/19315260.2017.1407984>
- HUNGRIA M., NOGUEIRA M.A., ARAUJO, R.S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: Strategies to improve sustainability. **Biol. Fert. Soils**, 2013;49:791-801.
- HUNGRIA, M. et al. Testes de eficiência agrônômica da tecnologia de coinoculação de rizóbios e *Azospirillum* em soja e feijoeiro. **Anais: da XVI Relare**. Londrina/PR, 2012.

- HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: **EMBRAPA SOJA**, 2011. 37p. (EMBRAPA SOJA. Documentos, 325).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M. S.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 331, n.1/2, p. 413–425, 2010.
- IAC, BOLETIM N.º 200. **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas** / Eds. Adriano Tosoni da Eira Aguiar, Charleston Gonçalves, Maria Elisa Ayres Guidetti Zagatto Paterniani; et al. 7.ª Ed. rev. e atual. Campinas: Instituto Agronômico, 2014. 452p.
- JONES, J.D.L., NGUYEN, C., FINLAY, R.D., 2009. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soilroot interface. **Plant Soil**. v.321, p.5-33.
- KANEKO T, MINAMISAWA K, ISAWA T, NAKATSUKASA H, MITSUI H, KAWAHARADA Y, NAKAMURA Y, WATANABE A, KAWASHIMA K, ONO A, SHIMIZU Y, TAKAHASHI C, MINAMI C, FUJISHIRO T, KOHARA M, KATOH M, NAKAZAKI N, NAKAYAMA S, YAMADA M, TABATAS, SATO S. Complete genomic structure of the cultivated rice endophyte *Azospirillum* sp. B510. **DNA Res.**,2010; 17:37-50.
- KESAULYA, H., HASINU, J.V., TUHUMURY, G.N.C. Potential of *Bacillus* spp produces siderophores in suppressing the wilt disease of banana plants. **IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.** 102, 012016-2018. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012016>.
- KIM, J.S., LEE, J., SEO, S.G., LEE, C., WOO, S.Y., KIM, S.H., 2015. Gene expression profile affected by volatiles of new plant growth promoting rhizobacteria, *Bacillus subtilis* strain JS, in tobacco. **Genes Genom.**37, 387 –397.
- KLOEPPER JW, SCHROTH MN. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: **Proceedings of the IVth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria** Vol. 2. Station de Pathologie Vegetale et Phyto-Bacteriologie; 1978. p. 879–82.
- KWAK MJ, SONG JY, KIM SY, JEONG H, KANG SG, KIM BK, KWON SK, LEE CH, YU DS, PARK SH, KIM JF. Complete genome sequence of the endophytic bacterium *Burkholderia* sp. strain KJ006. **J. Bacteriol.**, 2012; 194:4432-4433.
- LOBELL, D.B.; SCHLENKER, W.; J. COSTA-ROBERTS, J. Climate trends and global crop production since 1980. **Science**, v.333, pp. 616-620, 2011.
- LUCAS JA, RAMOS-SOLANO B, MONTES F, OJEDA J, MEGÍAS M, GUTIÉRREZ-MANERO FJ. Use of two PGPR strains in the integrated management of blast disease in rice (*Oryza sativa*) in Southern Spain. **Field Crops Research** 2009; 114:404–10.
- LYNCH, J.M.; LEIJ, F. DE. Rhizosphere. In: **eLS Plant Science**. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI:10.1002/9780470015902.a0000403.pub2.
- MALAVOLTA, E; VITTI, G. C; OLIVEIRA, S.A. Fundações. In: MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C; OLIVEIRA, S. A. (Ed.). **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. 2 ed. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fósforo. 1997. 319p.

- MEHNAZ, S. *Azospirillum* for Every Crop: A Biofertilizer. Plant Microbes Symbiosis: **Applied Facets**, 297.doi: 10.1007/978-81-322-2068-8_15, © Springer India 2015 .
- MENDES, L.W., KURAMAE, E.E., NAVARRETE, A.A., VAN VEEN, J.A., TSAI, S.M., 2014. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. **ISME J.** v.8, p.1577-1587.
- NAGATA, T., 2017. Effect of *Pseudomonas fluorescens* inoculation on the improvement of iron deficiency in tomato. **Plant Root** 11, 1 –9. <https://doi.org/10.3117/plantroot.11.1>.
- NARDI, S., CONCHERI, G., PIZZEGHELLO, D., STURARO, A., RELLA, R., PARVOLI, G., 2000. Soil organic matter mobilization by root exudates. **Chemosphere** 41, 653 –658.
- OLIVEIRA MA, ZUCARELI C, SPOLAOR LT, DOMINGUES AR, FERREIRA AS. Composição química dos grãos de milho em resposta à adubação mineral e inoculação com rizobactérias. **R. Ceres**, 2012b; 59:709-715.
- OLIVEIRA MA, ZUCARELI C, SPOLAOR LT, DOMINGUES AR, FERREIRA AS. Desempenho agrônomo do milho sob adubação mineral e inoculação das sementes com rizobactérias. **R. Bras. Eng. Agr. Amb.** 2012a;16:1040-1046.
- POURBABAEE, A.A., SHOAIBI, F., EMAMI, S., ALIKHANI, H.A., 2018. The potential contribution of siderophore producing bacteria on growth and Fe ion concentration of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under water stress. **J. Plant Nutr.** 41, 619 –626. <https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1406112>
- PRASHAR, P., KAPOOR, N., SACHDEVA, S., 2014. Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol.** v.13 (1), p. 63-77. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9317-z>.
- RADHAKRISHNAN, R., HASHEM, A., ABD_ALLAH, E.F. Bacillus: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. **Front Physiol.** 8, 667. 2017.
- RAHMAN KS, RAHMAN T, LAKSHMANAPERUMALSAMY P, BANAT IM. Occurrence of crude oil degrading bacteria in gasoline and diesel station soils. **J Basic Microbiol** 2002;42:284–91.
- RASHID, S., CHARLES, T.C., GLICK, B.R. Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. **Appl. Soil Ecol.** 61, 217 –224.
- REIS VM, JESUS EC, SCHWAB S, OLIVEIRA ALM, OLIVARES FL, BALDANI VLD, BALDANI JI. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: Fernandes MS, Souza SR, Santos LA., editores. **Nutrição Mineral de plantas** 2 ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2018. p.280-307.
- PARK, Y.G., MUN, B.G., KANG, S.M., HUSSAIN, A., SHAHZAD, R., SEO, C.W., KIM, A.Y., LEE, S.U., OH, K.Y., LEE, D.Y., LEE, I.J. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and

- nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PLoS One**. 12(3), e0173203. 2017
- PADDA, K.P., PURI, A., ZENG, Q., CHANWAY, C.P., WU, X., Effect of GFP-tagging on nitrogen fixation and plant growth promotion of an endophytic diazotrophic strain of *Paenibacillus polymyxa*. **Botany** 95 (9),933–942. 2017.
- PÉREZ-MONTAÑO, F.; ALÍAS-VILLEGAS, C.; BELLOGÍN, R.A.; CERRO, P. del.; ESPUNY, M.R.; JIMÉNEZ-GUERRERO, I.; LÓPEZ-BAENA, F.J.; OLLERO, F.J.; CUBO, T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. **Microbiological Research**, v.169, p.325-336, 2014.
- POURBABAE, A.A., SHOAIBI, F., EMAMI, S., ALIKHANI, H.A. The potential contribution of siderophore-producing bacteria on growth and Fe ion concentration of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under water stress. **J. Plant Nutr.** 41, 619 –626. 2018.
- RADWAN, Tharwat El-Sayed El-Desouk; MOHAMED, Zeinat Kamel; REIS, Veronica Massena. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 987-994, 2004
- RODRIGUEZ, H., GONZALEZ, T., GOIRE, I., BASHAN, Y., Gluconic acid production and phosphate solubilization on by the plant growth promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften** 91, 552–555, 2004.
- SAHOO, R.K., ANSARI, M.W., PRADHAN, M., DANGAR, T.K., MOHANTY, S., TUTEJA, N., 2014. Phenotypic and molecular characterization of native *Azospirillum* strains from rice fields to improve crop productivity. **Protoplasma** 251, 943 –953
- SANON, A., ANDRIANJAKA, Z.N., PRIN, Y., 2009. Comparison of soil bacterial communities in rhizosphere of three plant species and the interspaces in an Arid Grassland. **Plant Soil** v.321, p.259-278.
- SATYAPRAKASH, M., NIKITHA, T., REDDI, E.U.B., SADHANA, B., VANI, S.S. Phosphorous and phosphate solubilising bacteria and their role in plant nutrition. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.** 6 (4),2133–2144. 2017.
- SABATÉ, D.C., PÉREZ BRANDAN, C., PETROSELLI, G., ERRA-BALSELLS, R., AUDISIO, M.C. Decrease in the incidence of charcoal root rot in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Bacillus amyloliquefaciens* B14, a strain with PGPR properties. **Biol. Control** 113, 1 –8. 2017.
- SCHULTZ N, MORAIS RF, SILVA JA, BAPTISTA RB, OLIVEIRA RP, LEITE JM, PEREIRA W, CARNEIRO JUNIOR JB, ALVES BJR, BALDANI JI, BODDEY RM, URQUIAGA S, REIS VM. Avaliação agrônômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesq. Agropec. Bras.** 2012;42:261-268.
- SHOBER, A.L., TAYLOR, R.W., 2014. Nitrogen Management for Soybean. **University of Delaware, Newark, DE**. Available from: <http://extension.udel.edu/factsheet/nitrogen-management-for-soybean>.

- SINGH, J.S., GUPTA, V.K., 2018. Soil microbial biomass: a key soil driver in management of ecosystem functioning. **Sci. Total Environ.** v.634, p.497-500.
- SUBRAMANIAN, J., SATYAN, K. Isolation and selection of fluorescent pseudomonads based on multiple plant growth promotion traits and siderotyping. *Chil. J. Agric. Res.* 74, 319–325
- SUNEESH, K. 2004. Biodiversity of fluorescent *Pseudomonas* in soils of moist deciduous forests of Western Ghats of Uttara Kannada district. M. Sc. thesis, **University of Agricultural Sciences**, Dharwad.
- SULOCHANA, M.B., JAYACHANDRA, S.Y., KUMAR, S.A., PARAMESHWAR, A.B., REDDY, K.M., Dayanand, A., 2014. Siderophore as a potential plant growth-promoting agent produced by *Pseudomonas aeruginosa* JAS-25. **Appl. Biochem. Biotechnol.** 174, 297–308.
- SUGIYAMA, A., UEDA, Y., ZUSHI, T., TAKASE, H., YAZAKI, K., 2014. Changes in the bacterial community of soybean rhizospheres during growth in the field. **PLoS One** 9 (6), e100709. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100709>.
- TIWARI, S., LATA, C., CHAUHAN, P.S., NAUTIYAL, C.S. *Pseudomonas putida* attunes morphophysiological, biochemical and molecular responses in *Cicer arietinum* L. during drought stress and recovery. **Plant. Physiol. Biochem.** 99, 108-117. 2016.
- TIEN T, GASKINS M, HUBBELL D. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Appl. Environ. Microbiol.** 1979;37:1016-1024.
- URQUIAGA S, JANTALIA CP, RESENDE AS, DE ALVES BJR, BODDEY RM. Contribuição da fixação biológica de nitrogênio na produtividade dos sistemas agrícolas na América Latina. In: Aquino AM, de Assis RL de, editores. **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. p.181-200.
- VAN LOON, L. C., BAKKER, P. A. H. M. AND PIETERSE, C. M. J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annu. Rev. Phytopathol.**, 36: 453- 483.
- WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **J. Exp. Bot.**, 52: 487-511. 2001.
- YAN, Y., KURAMAE, E.E., DE HOLLANDER, M., KLINKHAMER, P.G.L., VAN VEEN, J.A., 2017. Functional traits dominate the diversity-related selection of bacterial communities in the rhizosphere. **ISMEJ**. v.11, p.56-66. Available from: <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.108>.
- XU, D., COTE, J.C., 2003. Phylogenetic relationships between *Bacillus* species and related genera inferred from comparison of 30 end 16S rDNA and 50 end 16S–23S ITS nucleotide sequences. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 53 (3), 695–704.