

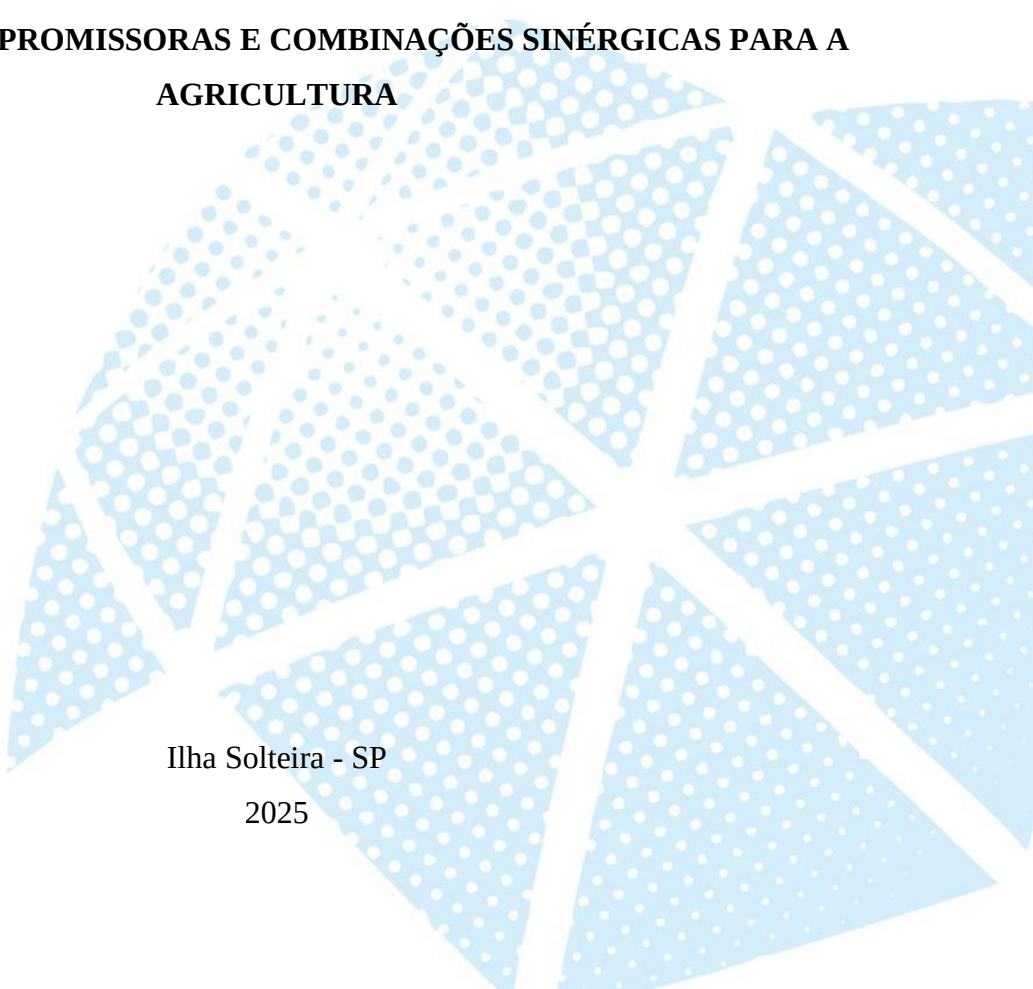
**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

FERNANDO DE SOUZA BUZO

**MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS: SELE-
ÇÃO DE ESPÉCIES PROMISSORAS E COMBINAÇÕES SINÉRGICAS PARA A
AGRICULTURA**

Ilha Solteira - SP

2025



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FERNANDO DE SOUZA BUZO

**MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS: SELE-
ÇÃO DE ESPÉCIES PROMISSORAS E COMBINAÇÕES SINÉRGICAS PARA A
AGRICULTURA**

Tese apresentada à Universidade
Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de En-
genharia, Ilha Solteira, para
obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Área de Concentração: Sistemas de Produção

Orivaldo Arf
Orientador

Everlon Cid Rigobelo
Amaia Nogales
Coorientadores

Ilha Solteira - SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvida pela Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

B992m Buzo, Fernando de Souza.
Microrganismos promotores de crescimento de plantas: seleção de espécies promissoras e combinações sinérgicas para a agricultura / Fernando de Souza Buzo. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2025
270 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2025

Orientador: Orivaldo Arf

Coorientador: Everlon Cid Rigobelo e Amaia Nogales

Inclui bibliografia

1. Inoculação. 2. Fungos micorrízicos arbusculares. 3. Bactérias promotoras de crescimento de plantas. 4. Diversidade microbiana. 5. *Zea mays* L. 6. *Phaseolus vulgaris* L.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A inoculação microbiana é uma ferramenta essencial para maior sustentabilidade da agricultura, sendo muito pesquisada e utilizada no Brasil com o objetivo de obtenção de maior produtividade e melhor aproveitamento dos recursos necessários a produção, como os nutrientes e o próprio solo. Apesar disso, este trabalho demonstra que existem diversos microrganismos com potencial para beneficiarem as culturas disponíveis em coleções brasileiras que são ainda pouco estudados e evidencia que os resultados obtidos em casas de vegetação nem sempre se confirmam em condições de campo. Por outro lado, fica claro que inocular um fungo micorrízico arbuscular (FMA) pode aumentar a produtividade de grãos no caso do feijão de inverno. E independente dos efeitos observados nas plantas, cada inoculação irá modular de maneira diferente a comunidade de bactérias, fungos e de FMA recrutada pelas raízes.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Microbial inoculation is an essential tool for enhancing agricultural sustainability. It is widely researched and applied in Brazil to achieve higher productivity and better utilization of resources such as nutrients and soil. However, this study highlights that numerous microorganisms with potential benefits for crops, available in Brazilian collections, remain underexplored and that results obtained in greenhouse conditions do not always translate to field scenarios. On the other hand, it is evident that inoculating an arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) can increase grain yield in winter bean cultivation. Furthermore, regardless of the effects observed on plants, each inoculation uniquely modulates the community of bacteria, fungi, and AMF recruited by the roots.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO DE PLANTAS: SELEÇÃO DE ESPÉCIES PROMISSORAS E COMBINAÇÕES SINÉRGICAS PARA A AGRICULTURA

AUTOR: FERNANDO DE SOUZA BUZO

ORIENTADOR: ORIVALDO ARF

COORIENTADORA: AMAIA MIREN NOGALES GARCIA

COORIENTADOR: EVERLON CID RIGOBELLO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia, área:
Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

 Documento assinado digitalmente
ORIVALDO ARF
Data: 12/03/2025 11:22:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.Dr. ORIVALDO ARF (Participação Virtual)
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Socio-Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

 Documento assinado digitalmente
LEANDRO BORGES LEMOS
Data: 28/01/2025 14:36:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. LEANDRO BORGES LEMOS (Participação Virtual)
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP

 Documento assinado digitalmente
ROGERIO PERES SORATTO
Data: 28/01/2025 14:45:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ROGÉRIO PERES SORATTO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

Documento assinado digitalmente
gov.br **FERNANDO DINI ANDREOTE**
Data: 28/01/2025 14:50:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FERNANDO DINI ANDREOTE (Participação Virtual)
Departamento de Ciência do Solo / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP

Documento assinado digitalmente
gov.br **ACACIO APARECIDO NAVARRETE**
Data: 29/01/2025 10:33:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ACACIO APARECIDO NAVARRETE (Participação Virtual)
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais / Universidade Brasil

Ilha Solteira, 28 de janeiro de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, nosso Pai, e a Jesus, nosso Mestre, por todas as bênçãos de amor que estendem sobre nós e o amparo constante nas adversidades, pelas inspirações ao longo do caminho, apoio e bondade em minha jornada!

À minha amada Família, minha imensa gratidão! Agradeço minha querida companheira Beatriz Navas, por todo seu amor, apoio e compreensão, especialmente nesta etapa! Agradeço ao meu irmão e melhor amigo, Ricardo Buzo, pela cumplicidade, paciência, e pelos momentos de alegria compartilhados. Agradeço minha mãe Sônia e meu pai Cássio, por tudo que fizeram por nós: o apoio, a força, o incentivo, o amparo, os ensinamentos, as oportunidades, a paciência, o carinho e amor. Aos nossos queridos avós Laurinda e Rubens, Jandyrá e Orcílio, agradeço por todo o amor e ensinamentos inesquecíveis. Agradeço também à toda a família da Bia pelo acolhimento e carinho: Aparecida, Carol, Renan, Iann, Ilva, Carlos, Gabriel, Inês e Otávio.

Agradeço ao meu querido orientador e amigo, Orivaldo Arf, por tantos anos de inspiração! Desde minha graduação, você foi um excelente professor e orientador, colaborando tanto com nossa formação técnica, com uma visão agrônômica e de campo admiráveis, mas também contribuiu imensamente para minha formação como ser humano. Obrigado pelas boas conversas, apoio, paciência e amizade!

Sou profundamente grato à querida coorientadora Amaia Nogales que me ensinou, apoiou, incentivou e auxiliou tanto nessa jornada acadêmica! Sou muito feliz pela honra de ser seu orientado e aprender sobre micorrizas com você, mesmo à distância! Obrigado por toda a atenção, carinho e gentileza! Também tenho grande gratidão ao querido coorientador Everlon Rigobelo, pelo apoio e auxílio na execução das pesquisas desde o mestrado, pela contribuição com o tema, pelos ensinamentos e carinho para comigo!

Agradeço imensamente pelos amigos e amigas que a vida me presenteou e que foram essenciais para minha jornada, por serem estrelas cuja “amizade traz o céu para mais perto de nós”. Agradeço ao Lucas Garé, meu amigo e companheiro de trabalho que contribui tanto com esta etapa. Agradeço ao Wesley, meu grande amigo de escola! E aos queridos amigos César Buranelo, Lucas Sussai e Marcia, Adalberto, Pedro Destro, Willian Nishimoto, Paulo Pissolito, Bertacine e Jeferson, Afonso Nunes, Rodrigo Alves, Edu Filiagi e às amigas Emariene Satin, Nathália Marchiori, Nayara Garcia, Poliana, Fabiana, Bia Ribeiro, Amanda, Izabela Sanches e Eduardo pela amizade!

Agradeço imensamente à Ana Célia Melges pelo amparo, ensinamentos, carinho e amizade tão especial! Você foi uma estrela a me iluminar os passos! Agradeço também ao Centro Espírita Cairbar Schutel pelo ensinamentos e oportunidades de servir.

Muito obrigado aos amigos da ‘Equipe Arf’, por todos os bons momentos juntos, em campo e após o ‘expediente’, pela colaboração e as boas risadas! Agradeço especialmente Letícia Zylmenith, Vinicius Tamboreli, Barbara Luna, César, Juliana Martins, Flávia Meireles e Alex Rangel, Ana Paula, Isabela Gatto, Lucas Leite, Vinicius Catalani, Juliana Correa, Erik, Gabriel Rogério, Heitor Castro, João Paulo Veríssimo, João Paulo Furlan, Julia, Leonardo, Otávio,

Pamela Morita, Pedro Giova, Silvio, Thais. Deixo aqui minha especial gratidão ao José Portugal, pelos ensinamentos no início desta trajetória com o grupo.

Deixo a minha gratidão à toda a Turma XLVII de Agronomia de Ilha Solteira: Carlos, Gabriel, Gabriela, José Luiz, Isabella, Izabela, Leonardo, Letícia, Luana, Manu, Paula, Paulo, Tamiris, Thiago, Victor, Vinicius, Vitória, Wallace, Yago, Yara, Davi, Jaqueline.

Agradeço ao Laboratório de Microbiologia Agrícola da FCAV/UNESP, coordenada pelo prof. Everlon Rigobelo, pelo auxílio com os inoculantes e análises, especialmente para o Edvan, Carlos, Maura e Roberta. Agradeço ao Laboratório de Microbiologia do Solo da ESALQ, coordenado pelo prof. Fernando Andreote, e a querida Denise, além do Grupo de Estudos em Fertilidade e Adubação da ESALQ, coordenado pelo prof. Paulo Pavinato, especialmente para a amiga Adila, pelo gentil auxílio com análises deste trabalho. Agradeço ao prof. Daniel Guariz e o Lucas Lopes pela colaboração com a bioinformática.

Agradeço à FEIS/UNESP, pela estrutura física, suporte e oportunidades, e todos os seus funcionários e servidores. Agradeço especialmente à Miriam, Selma, Fábio, Sinval, Alexandre, Sandra, Marcelo, César, José Raimundo, Buchada, Alvino, Tezinho, Airton, Osmar, Weslei, José Carlos Melo!

Quero agradecer a todos os professores que desde o ensino básico até aqui foram contribuindo com os tijolinhos da minha estrada! Antônio Bolonhezi, Edson, Ricardo, Salatier, Wilma, Kuniko, Ricardo, Marcelo Andreotti, Malta, Sueli, Silvana, Maria Ângela, Sérgio, Elisângela, Ceresini, Omar, Ana Maria, Rafael, Élcio, Lucíola.

Agradeço em especial aos queridos professores Roseli Arbach e Luis Antônio, Edson Lazarini, Marco Eustáquio, Aparecida Boliani, João Andrade, Marcelo Minhoto e Aline Martins que contribuíram tanto com minha formação acadêmica e pessoal!

Aos membros da banca de qualificação Marcelo e Juliano pelas contribuições. E muitíssimo obrigado aos membros desta banca de defesa, Acácio Navarrete, Fernando Andreote, Leandro Lemos e Rogério Sorato, pela participação e colaboração neste momento!

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da FEIS/UNESP pela oportunidade de desenvolver esse trabalho. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Obrigado à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2021/12885-3.

Finalmente, muito obrigado à todas as pessoas que cruzaram meu caminho, pois sou uma pessoa melhor e mais feliz graças a participação de cada uma delas! Cada um de nós é resultado das experiências que vive e das pessoas com quem convive!

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes”

(Isaac Newton)

“Considera-te como és: um permanente aprendiz da vida”

(Joanna de Ângelis)

RESUMO

Microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) são amplamente utilizados na agricultura pelos seus benefícios. No entanto, o uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e suas combinações com outros microrganismos ainda requer maior investigação. Este estudo teve como objetivo selecionar MPCP de coleções brasileiras com potencial para beneficiar o milho primeira safra e o feijão de inverno, além de identificar combinações sinérgicas desses MPCP com o FMA *Rhizoglossus clarum*. Inicialmente, foi conduzido um experimento em vasos, em delineamento de blocos casualizados (DBC), com três repetições, no qual foram testados 16 MPCP não micorrízicos, além de um tratamento testemunha sem inoculação. Foram avaliados parâmetros de crescimento, nutrição (nitrogênio – N e fósforo – P) e aspectos fisiológicos das plantas de milho e de feijão. Com base em um índice integrado de desempenho abrangendo os resultados de todos os parâmetros avaliados, foram selecionadas as bactérias *Nitrospirillum amazonense*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Azomonas macrocytogenes*, *Bacillus aryabhattai*, *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter beijerinckii* e *Bacillus amyloliquefaciens* para validação em campo. O experimento de campo foi realizado em Selvíria/MS, entre dezembro de 2021 e 2023, em DBC com esquema fatorial 8 x 2 e quatro repetições. O primeiro fator consistiu na inoculação das sete bactérias selecionadas e de uma testemunha não inoculada. O segundo fator avaliou a presença ou ausência do FMA *Rhizoglossus clarum* inoculado. Foram realizados quatro cultivos agrícolas, iniciando com o milho primeira safra (2021/22), sucedido pelo feijão de inverno (2022), repetindo-se o cultivo de milho primeira safra (2022/23) e feijão de inverno (2023) em sucessão novamente, mantendo os tratamentos fixos nas mesmas parcelas ao longo dos cultivos. As avaliações englobaram parâmetros fitotécnicos, nutricionais, diversidade microbiana (em alguns tratamentos) e propriedades do solo. A inoculação com o FMA aumentou o teor de cobre (Cu) foliar no milho, a produtividade e exportação de N, potássio (K), magnésio (Mg) e ferro (Fe) no feijão, e a atividade da desidrogenase no solo. A bactéria *A. macrocytogenes* aumentou o teor e exportação de zinco (Zn) pelos grãos de milho, o carbono da biomassa microbiana e o P lábil no solo. As bactérias inoculadas *B. amyloliquefaciens*, *Az. brasilense* e *Azot. beijerinckii* promoveram maior acúmulo de N no feijoeiro. Já a inoculação de *B. aryabhattai* aumentou o teor e exportação de Fe nos grãos de feijão. As coinoculações do FMA com *A. macrocytogenes* e *Azot. beijerinckii* mostraram potencial para elevar o P lábil no solo. A inoculação com *Bur. vietnamiensis* aumentou a colonização micorrízica no milho, o número de grãos por planta e os acúmulos de N e Cu no feijão. Por fim, *N. amazonense* promoveu maior teor e exportação de Zn no milho, além de maior teor e exportação de Fe no feijão. As comunidades de bactérias, fungos e FMA associadas às raízes de milho e feijão foram alteradas pelas inoculações de *N. amazonense*, *Bur. vietnamiensis*, *Az. brasilense* (somente no feijão) e pelo FMA *Rhizoglossus clarum*. Novos estudos são necessários para compreender as interações entre bactérias e FMA coinoculados e identificar as condições em que as inoculações realmente resultam em benefícios para as culturas agrícolas.

Palavras-chave: inoculação; fungos micorrízicos arbusculares; bactérias promotoras de crescimento de plantas; diversidade microbiana; *Zea mays* L.; *Phaseolus vulgaris* L.

ABSTRACT

Plant growth-promoting microorganisms (PGPM) are widely used in agriculture due to their benefits. However, the use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and their combinations with other microorganisms still requires further investigation. This study aimed to select PGPM from Brazilian collections with the potential to benefit first-season corn and winter beans, as well as to identify synergistic combinations of these PGPM with the AMF *Rhizoglyphus clarum*. Initially, a pot experiment was conducted in a randomized block design (RBD) with three replications, testing 16 non-mycorrhizal PGPM, along with a control treatment without inoculation. Growth parameters, nutrition (nitrogen – N and phosphorus – P), and physiological aspects of corn and bean plants were evaluated. Based on an integrated performance index encompassing the results of all evaluated parameters, the bacteria *Nitrospirillum amazonense*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Azomonas macrocytogenes*, *Bacillus aryabhattai*, *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter beijerinckii*, and *Bacillus amyloliquefaciens* were selected for field validation. The field experiment was conducted in Selvíria/MS, between December 2021 and 2023, using an RBD with a factorial 8×2 design and four replications. The first factor corresponded to the inoculation of the seven selected bacteria and a non-inoculated control. The second factor evaluated the presence or absence of AMF *Rhizoglyphus clarum* inoculation. Four agricultural cycles were conducted, starting with first-season corn (2021/22), followed by winter beans (2022), then repeating the sequence with first-season corn (2022/23) and winter beans (2023), maintaining the treatments fixed in the same plots throughout the cultivations. The evaluations included phytotechnical and nutritional parameters, microbial diversity (in some treatments), and soil properties. AMF inoculation increased foliar copper (Cu) content in corn, as well as productivity and the export of N, potassium (K), magnesium (Mg), and iron (Fe) in beans, in addition to enhancing dehydrogenase activity in the soil. *A. macrocytogenes* increased the content and export of zinc (Zn) in corn grains, microbial biomass carbon, and labile P in the soil. The inoculated bacteria *B. amyloliquefaciens*, *Az. brasilense*, and *Azot. beijerinckii* promoted higher N accumulation in beans. Meanwhile, *B. aryabhattai* increased the Fe content and export in bean grains. The co-inoculations of AMF with *A. macrocytogenes* and *Azot. beijerinckii* showed potential for increasing labile P in the soil. *Bur. vietnamiensis* inoculation enhanced mycorrhizal colonization in corn, the number of grains per plant, and N and Cu accumulation in beans. Finally, *N. amazonense* promoted higher Zn content and export in corn, along with increased Fe content and export in beans. The bacterial, fungal, and AMF communities associated with corn and bean roots were altered by the inoculations of *N. amazonense*, *Bur. vietnamiensis*, *Az. brasilense* (only in beans), and AMF *Rhizoglyphus clarum*. Further studies are needed to better understand the interactions between co-inoculated bacteria and AMF and to identify the conditions under which inoculations truly result in benefits for agricultural crops.

Keywords: inoculation; arbuscular mycorrhizal fungi; plant growth-promoting bacteria; microbial diversity; *Zea mays* L.; *Phaseolus vulgaris* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Temperatura média (°C), precipitação (mm), insolação (h dia ⁻¹) e umidade relativa do ar média (%) no período de execução dos experimentos de milho e de feijão.....	24
Figura 3.1 Imagem de satélite da área experimental e localização geográfica	62
Figura 3.2 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e <i>Rhizoglossus clarum</i> (FMA) para diâmetro do colmo de plantas de milho.....	75
Figura 3.3 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para a colonização radicular micorrízica de plantas de milho	75
Figura 3.4 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para massa de cem grãos de milho....	76
Figura 3.5 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e <i>Rhizoglossus clarum</i> (FMA) para teor foliar de cobre de milho	79
Figura 3.6 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para exportação de P em grãos de milho	83
Figura 3.7 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para exportação de zinco em grãos de milho	83
Figura 3.8 Abundância relativa dos 20 filos (A) e 20 gêneros (B) mais comuns da comunidade bacteriana em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossus clarum</i>	85
Figura 3.9 Abundância relativa dos 20 filos (A) e 20 gêneros (B) mais comuns da comunidade fúngica em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossus clarum</i>	86
Figura 3.10 Abundância relativa dos 20 gêneros mais comuns da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossus clarum</i>	87
Figura 3.11 Diagramas de Venn representando gêneros bacterianos compartilhados e exclusivos em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e <i>Rhizoglossus clarum</i> (B).....	89

Figura 3.12 Diagramas de Venn representando gêneros fúngicos compartilhados e exclusivos em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e <i>Rhizoglossum clarum</i> (B).....	90
Figura 3.13 Diagramas de Venn representando gêneros de fungos micorrízicos arbusculares compartilhados e exclusivos em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e <i>Rhizoglossum clarum</i> (B)	91
Figura 3.14 Funções bacterianas associadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas (conforme a análise FAPROTAX- Functional Annotation of Prokaryotic Taxa) em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossum clarum</i>	92
Figura 3.15 Funções fúngicas relacionadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas (conforme a análise FUNGUILD - Fungi Functional Guild) em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossum clarum</i>	93
Figura 3.16 Correlação de Pearson entre os principais gêneros bacterianos encontrados nas raízes do milho, inclusive os gêneros inoculados <i>Nitrospirillum</i> e <i>Burkholderia</i> com os componentes de produção, produtividade, teores de nutrientes na parte aérea e nos grãos	95
Figura 3.17 Correlação de Pearson entre os principais gêneros fúngicos encontrados nas raízes do milho com os componentes de produção, produtividade, teor de nutrientes na parte aérea e nos grãos	96
Figura 3.18 Correlação de Pearson entre os principais gêneros de fungos micorrízicos arbusculares encontrados nas raízes do milho, inclusive o gênero inoculado <i>Rhizoglossum</i> , com os componentes de produção, produtividade, teor de nutrientes na parte aérea e nos grãos	97
Figura 4.1 Desdobramento da interação entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos sobre o número de grãos por planta de feijão (NGPP)	144
Figura 4.2 Desdobramento da interação entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e <i>Rhizoglossum clarum</i> sobre o número de grãos por vagem de feijão (NGPV)	144
Figura 4.3 Desdobramento da interação entre a inoculação com <i>Rhizoglossum clarum</i> (FMA) e os anos de experimento sobre a produtividade de feijão (kg ha ⁻¹)	145
Figura 4.4 Desdobramento da interação entre inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para exportação de nitrogênio nos grãos de feijão (kg ha ⁻¹).....	153
Figura 4.5 Desdobramento da interação entre inoculação com <i>Rhizoglossum clarum</i> (FMA) e anos de experimento para exportação de nitrogênio nos grãos de feijão (kg ha ⁻¹).....	153
Figura 4.6 Desdobramento da interação entre inoculação com <i>Rhizoglossum clarum</i> (FMA) e anos de experimento para exportação de potássio nos grãos de feijão (kg ha ⁻¹).....	154

Figura 4.7 Desdobramento da interação entre inoculações de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e <i>Rhizoglossus clarum</i> (FMA) sobre a exportação de magnésio nos grãos de feijão (kg ha ⁻¹)	154
Figura 4.8 Desdobramento da interação entre inoculação de <i>Rhizoglossus clarum</i> (FMA) e anos de experimento para exportação de magnésio nos grãos de feijão (kg ha ⁻¹)	155
Figura 4.9 Desdobramento da interação entre a inoculação com <i>Rhizoglossus clarum</i> (FMA) e os anos de experimento para exportação de cobre nos grãos de feijão (g ha ⁻¹).....	155
Figura 4.10 Desdobramento da interação entre a inoculação com <i>Rhizoglossus clarum</i> (FMA) e os anos de experimento para exportação de ferro nos grãos de feijão (g ha ⁻¹).....	155
Figura 4.11 Composição da comunidade bacteriana (A - filos e B - gêneros) em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossus clarum</i>	157
Figura 4.12 Composição da comunidade fúngica (A - filos e B - gêneros) em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossus clarum</i>	158
Figura 4.13 Composição de gêneros da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossus clarum</i>	159
Figura 4.14 Diagramas de Venn representando gêneros bacterianos compartilhados e exclusivos em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e <i>Rhizoglossus clarum</i> (B).....	161
Figura 4.15 Diagramas de Venn representando gêneros fúngicos compartilhados e exclusivos em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e <i>Rhizoglossus clarum</i> (B).....	162
Figura 4.16 Diagramas de Venn representando gêneros de fungos micorrízicos arbusculares compartilhados e exclusivos em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e <i>Rhizoglossus clarum</i> (B)	163
Figura 4.17 Funções bacterianas associadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas (conforme a análise FAPROTAX - Functional Annotation of Prokaryotic Taxa) em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossus clarum</i>	164
Figura 4.18 Funções fúngicas relacionadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas (conforme a análise FUNGUILD - Fungi Functional Guild) em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e <i>Rhizoglossus clarum</i>	165
Figura 4.19 Correlação de Pearson entre os principais gêneros bacterianos encontrados nas raízes do feijão, inclusive os gêneros inoculados <i>Azospirillum</i> , <i>Nitrospirillum</i> e <i>Burkholderia</i>	

com os componentes de produção, produtividade, teores de nutrientes na parte aérea e nos grãos	167
Figura 4.20 Correlação de Pearson entre os principais gêneros fúngicos encontrados nas raízes do feijão, com os componentes de produção, produtividade, teor de nutrientes na parte aérea e nos grãos	168
Figura 4.21 Correlação de Pearson entre os principais gêneros de fungos micorrízicos arbusculares encontrados nas raízes do feijão, com os componentes de produção, produtividade, teor de nutrientes na parte aérea e nos grãos	169
Figura 5.1 Desdobramento da interação entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e <i>Rhizogloium clarum</i> (FMA) sobre a atividade da fosfatase ácida do solo	221
Figura 5.2 Desdobramento da interação entre a inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e os anos de experimento sobre o carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) após inoculações em milho e feijão.....	221
Figura 5.3 Desdobramento da interação entre a inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e os anos de experimento sobre o P microbiano do solo após inoculações em milho e de feijão	224

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Caracteres de crescimento vegetativo, nutricionais e fisiológicos de plantas de milho após inoculação com diferentes microrganismos promotores de crescimento de plantas.....	32
Tabela 2.2 Caracteres de crescimento vegetativo, nutricionais e fisiológicos de plantas de feijão após inoculação com diferentes microrganismos promotores de crescimento de plantas.....	34
Tabela 2.3 Índices finais e classificação de cada microrganismo, somando-se os índices parciais do milho e do feijão	35
Tabela 3.1 Valores de fertilidade do solo anteriormente à instalação do experimento	63
Tabela 3.2 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para índice de clorofila foliar (ICF), massa seca da parte aérea (MSPA), altura de planta (ALTP), altura de inserção de espiga (ALTE), diâmetro do colmo (DC), colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (Colon), para número de fileiras por espiga (Fileiras), número de grãos por fileira (Graofil), comprimento de espiga (Compesp), diâmetro de espiga (Diamesp), população final de plantas (POPF), massa de cem grãos (MCEMG) e produtividade de grãos (PRODUT) em plantas de milho. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas	74
Tabela 3.3 Desdobramento da interação tripla entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), <i>Rhizoglosum clarum</i> (FMA) e anos de experimento para o diâmetro de espiga de milho (mm)	76
Tabela 3.4 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para os teores de nutrientes foliares (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, cobre - Cu, ferro - Fe, manganês - Mn e zinco - Zn) do milho. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas.....	78
Tabela 3.5 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para teores de nutrientes (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, cobre - Cu, ferro - Fe, manganês - Mn e zinco - Zn) em grãos de milho. 2). Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas.....	80
Tabela 3.6 Desdobramento da interação tripla entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), <i>Rhizoglosum clarum</i> (FMA) e anos de experimento para o teor de zinco em grãos de milho	81

Tabela 3.7 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para exportação de nutrientes (nitrogênio - ExpNitro, fósforo - ExpFosf, potássio - ExpPotas, cálcio - ExpCa, magnésio - ExpMg, enxofre - ExpEnxof, cobre - ExpCobre, ferro - ExpFe, manganês - ExpMn e zinco - ExpZinc) em grãos de milho. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas.....	82
Tabela 3.8 Valores de p da ANAVA de dois fatores realizada para índices de diversidade alfa para as comunidades bacterianas, fúngicas e de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e de <i>Rhizoglossum clarum</i> (FMA).....	88
Tabela 4.1 Valores de fertilidade do solo anteriormente ao segundo ano da cultura do feijão	136
Tabela 4.2 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para índice de clorofila foliar (ICF), matéria seca da parte aérea (MSPA), colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (Colon), número de vagens por planta (NVPP), número de grãos por planta (NGPP), número de grãos por vagem (NGPV) população final de plantas (POPF), massa de cem grãos (MCEMG) e produtividade (PRODUT) na cultura do feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas	143
Tabela 4.3 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), <i>Rhizoglossum clarum</i> (FMA) e os anos de experimento sobre a população final de plantas de feijão (plantas ha ⁻¹)	145
Tabela 4.4 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para teores de nutrientes (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, cobre - Cu, ferro - Fe, manganês - Mn e zinco - Zn) em plantas de feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas.....	147
Tabela 4.5 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para acúmulo de nutrientes (nitrogênio - AcNitro, fósforo - AcFosf, potássio - AcPotas, cálcio - AcCa, magnésio - AcMg, enxofre - AcEnx, cobre - AcCobre, ferro - AcFe, manganês - AcMn e zinco - AcZinc) na parte aérea de plantas de feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas	148

Tabela 4.6 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), <i>Rhizoglosum clarum</i> (FMA) e os anos de experimento sobre o acúmulo de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão (g planta ⁻¹)	149
Tabela 4.7 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), <i>Rhizoglosum clarum</i> (FMA) e os anos de experimento sobre o acúmulo de fósforo na parte aérea de plantas de feijão (g planta ⁻¹)	149
Tabela 4.8 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), <i>Rhizoglosum clarum</i> (FMA) e os anos de experimento sobre o acúmulo de zinco na parte aérea de plantas de feijão (mg planta ⁻¹)	149
Tabela 4.9 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para teores de nutrientes (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, cobre - Cu, ferro - Fe, manganês - Mn e zinco - Zn) em grãos de feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas.....	151
Tabela 4.10 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para exportação de nutrientes (nitrogênio - ExpNitro, fósforo - ExpFosf, potássio - ExpPotas, cálcio - ExpCa, magnésio - ExpMg, enxofre - ExpEnxof, cobre - ExpCobre, ferro - ExpFe, manganês - ExpMn e zinco - ExpZinc) em grãos de feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas.....	152
Tabela 4.11 Valores de p da ANAVA de dois fatores realizada para índices de diversidade alfa para as comunidades bacterianas, fúngicas e de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e de <i>Rhizoglosum clarum</i> (FMA)	160
Tabela 5.1 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito das bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para atividade das enzimas de solo arilsulfatase, beta-glicosidase, fosfatase ácida, desidrogenase, carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração basal do solo (RBS) e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas	220
Tabela 5.2 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), <i>Rhizoglosum clarum</i> (FMA) e os anos de experimento sobre a respiração basal do solo (RBS).....	222

Tabela 5.3 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para frações de fósforo lábil, moderadamente lábil (Mod. Lábil), não lábil e fósforo microbiano no solo. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas.....	223
Tabela 5.4 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), <i>Rhizogloium clarum</i> (FMA) e os anos de experimento sobre a fração de P lábil do solo	223

LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1 Resumo cronológico do experimento, com datas de semeadura e colheita de cada cultura.....	66
---	----

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	22
	REFERÊNCIAS	21
2	ÍNDICE DE SUPERIORIDADE PARA SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM MILHO E FEIJÃO	21
2.1	INTRODUÇÃO.....	21
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	23
2.2.1	<i>Área experimental</i>	23
2.2.2	<i>Delineamento experimental e material biológico</i>	24
2.2.3	<i>Condução do experimento</i>	25
2.2.4	<i>Avaliações</i>	27
2.2.5	<i>Análise estatística</i>	28
2.2.6	<i>Classificação dos microrganismos</i>	28
2.3	RESULTADOS	30
2.3.1	<i>Milho</i>	30
2.3.2	<i>Feijão</i>	33
2.3.3	<i>Classificação dos microrganismos</i>	35
2.4	DISCUSSÃO.....	36
2.5	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS	40
	MATERIAL SUPLEMENTAR	48
	APÊNDICE 1 – Imagens do experimento.....	55
3	EFEITOS DA COINOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E <i>RHIZOGLOMUS CLARUM</i> SOBRE O CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E MICROBIOMA DA RAIZ DE MILHO PRIMEIRA SAFRA	59
3.1	INTRODUÇÃO.....	60
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	62
3.2.1	<i>Área experimental</i>	62
3.2.2	<i>Delineamento experimental e material biológico</i>	63
3.2.3	<i>Condução do experimento</i>	64

3.2.4	<i>Avaliações</i>	67
3.2.5	<i>Análise estatística dos dados de crescimento, produtividade e nutrição</i>	68
3.2.6	<i>Análises de Comunidades Microbianas</i>	68
3.2.7	<i>Análise de Bioinformática</i>	69
3.2.7.1	Processamento dos dados	69
3.2.7.2	Análises descritivas e estatísticas do microbioma	71
3.3	RESULTADOS	72
3.3.1	<i>Componentes de produção e produtividade</i>	72
3.3.2	<i>Nutrição de plantas</i>	76
3.3.3	<i>Análise das comunidades microbianas</i>	84
3.3.4	<i>Correlação entre as comunidades microbianas e componentes de produção, produtividade e nutrientes</i>	94
3.4	DISCUSSÃO	97
3.5	CONCLUSÃO	107
	REFERÊNCIAS	109
	MATERIAL SUPLEMENTAR	127
4	BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E <i>RHIZOGLOMUS CLARUM</i> MODULAM A NUTRIÇÃO, PRODUTIVIDADE E COMUNIDADE MICROBIANA DAS RAÍZES DO FEIJÃO DE INVERNO	133
4.1	INTRODUÇÃO	134
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	135
4.2.1	<i>Área experimental</i>	135
4.2.2	<i>Delineamento experimental e material biológico</i>	136
4.2.3	<i>Condução do experimento</i>	137
4.2.4	<i>Avaliações</i>	139
4.2.5	<i>Análise estatística dos dados de crescimento, produtividade e nutrição</i>	140
4.2.6	<i>Análises de comunidades microbianas</i>	140
4.2.7	<i>Análise de bioinformática</i>	141
4.3	RESULTADOS	141
4.3.1	<i>Componentes de produção e produtividade</i>	141
4.3.2	<i>Nutrição de plantas</i>	145
4.3.3	<i>Comunidades microbianas</i>	156

4.3.4	<i>Correlação entre as comunidades microbianas e componentes de produção, produtividade e nutrientes.....</i>	166
4.4	DISCUSSÃO.....	169
4.5	CONCLUSÃO.....	180
	REFERÊNCIAS	181
	MATERIAL SUPLEMENTAR	203
5	INTERAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E <i>RHIZOGLOMUS CLARUM</i> NA QUALIDADE BIOLÓGICA E FRAÇÕES DE FÓSFORO DO SOLO.....	210
5.1	INTRODUÇÃO.....	211
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	213
5.2.1	<i>Área experimental</i>	213
5.2.2	<i>Delineamento experimental e material biológico</i>	213
5.2.3	<i>Avaliações</i>	214
5.2.4	<i>Análise estatística.....</i>	218
5.3	RESULTADOS.....	218
5.4	DISCUSSÃO.....	224
5.5	CONCLUSÃO.....	229
	REFERÊNCIAS	231
	MATERIAL SUPLEMENTAR	243
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	244
	APÊNDICE 2 – IMAGENS DO EXPERIMENTO	247

1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O milho (*Zea mays* L.) é um cereal de grande importância no cenário mundial, devido ao seu uso para alimentação humana e animal, além do processamento industrial (Duarte *et al.*, 2011). A cultura do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), por sua vez, tem grande relevância no Brasil e no mundo, sendo fonte proteica em diversos países (Barbosa; Gonzaga, 2012). Ambas são essenciais para a alimentação humana, tornando fundamental o aumento sustentável de suas produtividades, sendo que o feijão-comum é indicado como cultura de sucessão ao milho primeira safra (Lemos *et al.*, 2015).

Nesse contexto, os microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) desempenham um papel crucial ao se associarem à rizosfera e aos tecidos internos das raízes de diferentes espécies vegetais, proporcionando benefícios por mecanismos diretos e indiretos (Hungria *et al.*, 2010). Estes microrganismos são majoritariamente bactérias, as quais também são conhecidas por bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), mas há outros microrganismos como fungos micorrízicos e não micorrízicos, por exemplo *Trichoderma harzianum*.

Dentre os MPCP, existem os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), que colonizam as raízes das plantas com hifas que se estendem pelo solo e funcionam como extensão do sistema radicular, aumentando o volume de solo explorado e, consequentemente, a absorção de água e nutrientes (Smith; Read, 2008). A simbiose com FMA aumenta a disponibilidade, absorção e translocação de vários nutrientes, resultando em melhor nutrição das plantas, maior produção de fotoassimilados e acúmulo de biomassa (Chen *et al.*, 2017; Mitra *et al.*, 2019). Dentro desses benefícios, o fornecimento de fósforo (P) para a planta é o mais relevante (Karandashov; Bucher, 2005), sendo observado maior teor de P em plantas micorrizadas ou ainda maior taxa de absorção de Pi em plantas de milho colonizadas por FMA (Garcés-Ruiz *et al.*, 2017).

Apesar de todos esses benefícios dos FMA sobre as plantas, os trabalhos sobre seus efeitos em culturas agrícolas em condições de campo são minoria, predominando trabalhos em vasos (Delavaux *et al.*, 2017). Desse modo, o presente trabalho, ao inocular FMA em condições de campo em sucessivos cultivos de um sistema de produção, fornece informações essenciais para entender essa ferramenta e seus resultados em áreas agrícolas brasileiras.

Os mecanismos em que BPCP beneficiam as plantas envolvem a fixação biológica do nitrogênio (FBN), produção de substâncias promotoras de crescimento, solubilização

de P, produção de sideróforos e proteção contra patógenos. No caso da FBN, as bactérias podem estabelecer uma simbiose com as plantas como no caso dos rizóbios com leguminosas ou apenas uma relação associativa, menos íntima, como no caso do *Azospirillum brasilense* (Moreira; Siqueira, 2006).

Algumas espécies ou gêneros são mais conhecidos, como *Nitrospirillum amazonense* (Schwab *et al.*, 2018), o gênero *Burkholderia* (Gillis *et al.*, 1995); *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Crespo *et al.*, 2011); *Azospirillum brasilense* (Fukami *et al.*, 2016) e *Herbaspirillum seropedicae* (Thiengo *et al.*, 2024), que são conhecidas pela fixação de N em associação com as plantas e pela produção de fitormônios; além dos gêneros *Pseudomonas* (Naik *et al.*, 2008) e *Bacillus* (Poveda; González-Andrés, 2021), que além de produzirem substâncias promotoras de crescimento, podem solubilizar P e proteger contra patógenos.

Outras bactérias com funções semelhantes precisam ser melhor estudadas por apresentarem potencial para uso agrícola, como *Azomonas macrocytogenes* que fixam N em condições de deficiência de molibdato (Page e Collinson, 1987); *Azorhizobium caulinodans* que realiza FBN com formação de nódulos na leguminosa *Sesbania rostrata* e se estabeleceu endofiticamente em trigo (Liu *et al.*, 2017); *Azotobacter* spp. (Mahmood *et al.*, 2016) e *Beijerinckia doebereineriae*, que é uma fixadora de N adaptada a solos tropicais pobres em fosfato, mas ricos em alumínio tóxico (Becking, 1961). Além das BPCP, o gênero *Trichoderma* é bastante estudado, pois envolve fungos com potencial de uso na agricultura, por promoverem efeitos positivos às plantas, como proteção contra patógenos (com destaque para o biocontrole de mofo-branco no caso do feijão) e solubilização de P (Chagas *et al.*, 2015, Altomare *et al.* 1999, Hermosa *et al.*, 2012).

Existem diversos estudos sobre MPCP e FMA na literatura, porém, a interação entre eles é pouco explorada. Há alguns trabalhos indicando sinergismo em combinações do tipo (Bhowmik e Singh, 2004; Barea *et al.*, 2005) e outros indicando a ocorrência de antagonismo (Ardakani *et al.*, 2011), a depender das espécies consideradas.

Além de beneficiarem as culturas agrícolas, as inoculações podem influenciar a comunidade microbiana do solo e da planta. Afinal, há grande abundância e diversidade de microrganismos ocupando o solo, a rizosfera os tecidos internos das plantas (Bakker *et al.*, 2013). Para estudar como esses microrganismos influenciam o solo e as plantas, existem análises mais generalistas, como a taxa respiratória, biomassa e atividade enzimática (Hill *et al.*, 2000). Porém, atualmente, dispõe-se de ferramentas moleculares para estudar o microbioma das plantas e dos solos. Isso já permitiu entender que modificar os

microrganismos recrutados pelas plantas pode alterar seu crescimento, suscetibilidade às doenças, tolerância à estresses abióticos, culminando em alterações em sua produtividade (Sasse *et al.*, 2018; Trivedi *et al.*, 2020; Hassani *et al.*, 2023). Consequentemente, sabe-se que a prática de inoculação induz alterações no microbioma das raízes e da rizosfera que podem beneficiar seu crescimento e produtividade (Moretti *et al.*, 2024; Rigobelo *et al.*, 2024).

Desse modo, estudos envolvendo combinações entre MPCP e FMA são essenciais por permitirem identificar os efeitos e as melhores combinações para as culturas agrícolas, como demonstrado com o presente trabalho.

Assim, as hipóteses testadas foram:

- Algumas das inoculações levarão à maior concentração e acúmulo de nutrientes, incrementando o desenvolvimento das plantas de milho e feijão-comum e a produtividade das mesmas;
- As combinações de microrganismos promovem mais benefícios ao sistema agrícola do que o uso de cada um deles isoladamente;
- O uso contínuo de inoculantes em sistemas agrícolas é capaz de alterar os indicadores de qualidade biológica do solo e aumentar o P disponível no solo;
- As inoculações podem promover mudanças na comunidade microbiana das raízes.

REFERÊNCIAS

- ALTOMARE C.; NORVELL W. A.; BJÖRKMAN T.; HARMAN G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* rifai 1295-22. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, p. 2926–2933, 1999.
- ARDAKANI, M. R.; 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 and Molecular Biology of Plants**, New Delhi, v. 17, n. 2, p. 181-192, 2011.
- BAKKER, P.A.; BERENDSEN, R.L.; DOORNBOS, R.F.; WINTERMANS, P.C.; PIETERSE, C.M. The rhizosphere revisited: rootmicrobiomics, **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 4, n. 165, 2013.
- BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. (ed.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012. 247 p.
- BAREA, J. M.; POZO, M. J.; AZCÓN, R.; AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 417, p. 1761-1778, 2005.
- BECKING, J. H. Studies on nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia*: I. geographical and ecological distribution in soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 14, n. 1, p. 49-81, 1961.
- BHOWMIK, S. N.; SINGH, C. S. Mass multiplication of AM inoculum; effect of plant growth-promoting rhizobacteria and yeast in rapid culturing of *Glomus mosseae*. **Current Science**, Jodhpur, v. 86, n. 5, p. 705-709, 2004.
- CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; CARVALHO, M. R.; MILLER, L. O.; COLONIA, B. S. O. Evaluation of the phosphate solubilization potential of *Trichoderma* strains (Trichoplus JCO) and effects on rice biomass. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Heidelberg, v. 15, n. 3, p. 794-804, 2015.
- CHEN, S.; ZHAO, H.; ZOU, C.; LI, Y.; CHEN, Y.; WANG, Z. Combined Inoculation with multiple arbuscular mycorrhizal fungi improves growth, nutrient uptake and photosynthesis in cucumber seedlings. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, p. 25-16, 2017.
- CRESPO, J. M.; BOIARDI, J. L.; LUNA, M. F. Mineral phosphate solubilization activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus* under P-limitation and plant root environment. **Agricultural Sciences**, Irvine, v. 2, n. 1, p. 16-22, 2011.
- DELAVAUX, C. S.; SMITH-RAMESH, L. M.; KUEBBING, S. E. Beyond nutrients: a meta-analysis of the diverse effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plants and soils. **Ecology**, Hoboken, v. 98, n. 8, p. 2111-2119, 2017.

DUARTE, J. O.; MATTOSO, M. J.; GARCIA, J. C. **Milho**: importância socioeconômica. [S. l.: s. n.], 2011. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONTAG01_8_168200511157.html. Acesso em: 29 jan. 2019.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, Heidelberg, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.

GARCÉS-RUIZ, M.; CALONNE-SALMON, M.; PLOUZNIKOFF, K.; MISSON, C.; NAVARRETE-MIER, M.; CRANENBROUCK, S. Dynamics of short-term phosphorus uptake by intact mycorrhizal and non-mycorrhizal maize plants grown in a circulatory semi-hydroponic cultivation system. **Frontiers Plant Science**, Lausanne, v. 8, p. 1471, 2017.

GILLIS, M.; VAN VAN, T.; BARDIN, R.; GOOR, M.; HEBBAR, P.; WILLEMS, A.; SEGERS, P.; KERSTERS, K.; HEULIN, T.; FERNANDEZ, M. P. Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N₂-fixing isolates from rice in Vietnam. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 45, n. 2, p. 274-289, 1995.

HASSANI, M. A.; GONZALEZ, O.; HUNTER, S. S.; HOLMES, G. J.; HEWAVITHARANA, S. S.; IVORS, K.; LAZCANO, C. Microbiome network connectivity and composition linked to disease resistance in strawberry plants. **Phytobiomes Journal**, St. Paul, v. 7, p. 298-311, 2023.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, London, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.

HILL, G.T.; MITKOWSKI, N.A.; ALDRICH-WOLFE, L.; EMELE, L.R.; JURKONIE, D.D.; FICKE, A.; MALDONADO-RAMIREZ, S.; LYNCH, S.T.; NELSON, E.B. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, p. 25-36, 2000.

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

KARANDASHOV, V.; BUCHER, M. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 10, p. 22-29, 2005.

LEMO, L. B.; MINGOTTE, F. L. C.; FARINELLI, R. Cultivares. In: ARF, O.; LEMO, L. B.; SORATTO, R. P.; FERRARIA, S. P. (ed.). **Aspectos gerais da cultura do feijão**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais – (FE-PAF), 2015. p. 181-207.

LIU, H.; WANG, X.; QI, H.; WANG, Q.; CHEN, Y.; LI, Q.; XIE, Y. The infection and impact of *Azorhizobium caulinodans* ORS571 on wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 11, e0187947, 2017.

MAHMOOD, A.; TURGAY, O. C.; FAROOQ, M.; HAYAT, R. Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 92, n. 8, p. 112, 2016.

MITRA, D.; NAVENDRA, U.; PANNEERSELVAM, U.; ANSUMAN, S.; GANESHAMURTHY, A. N.; DIVYA, J. Role of mycorrhiza and its associated bacteria on plant growth promotion and nutrient management in sustainable agriculture. **International Journal Life Sciences Applied Sciences**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 1-10, 2019.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Ed. da UFLA, 2006. p. 407-447.

MORETTI, L.G.; CRUSCIOL, C.A.C.; LEITE, M.F.A.; MOMESSO, L.; BOSSOLANI, J. W.; COSTA, O. Y. A.; HUNGRIA, M.; KURAMAE, E. E. Diverse bacterial consortia: key drivers of rhizosoil fertility modulating microbiome functions, plant physiology, nutrition, and soybean grain yield. **Environmental Microbiome**, London, v. 19, 50, 2024.

NAIK, P. R.; RAMAN, G.; NARAYANAN, K. B.; SAKTHIVEL, N. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. **BMC Microbiology**, London, v. 8, p. 230, 2008.

PAGE, W. J.; COLLINSON, S. K. Characterization of *Azomonas macrocytogenes* strains isolated from Alberta soils. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 33, n. 9, p. 830-833, 1987.

POVEDA, J.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 105, p. 8629-8645, 2021.

RIGOBELLO, E. C.; CARVALHO, L. A. L.; SANTOS, C. H. B.; FREZARIN, E. T.; PINHEIRO, D. G.; NICODEMO, D.; BABALOLA, O. O.; DESOIGNIES, N. Growth promotion and modulation of the soybean microbiome INTACTA RR PRO with the application of the fungi *Trichoderma harzianum* and *Purpureocillium lilacinum*. **Scientific Reports**, London, v. 14, 21004, 2024.

SASSE, J.; MARTINOIA, E.; NORTHEN, T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 23, n. 1, p. 25-41, 2018.

SCHWAB, S.; TERRA, L. A.; BALDANI, J. I. Genomic characterization of *Nitrospirillum amazonense* strain CBAmC, a nitrogen-fixing bacterium isolated from surface-sterilized sugarcane stems. **Molecular Genetics and Genomics**, Heidelberg, v. 293, n. 4, p. 997-1016, 2018.

SMITH, S. E.; READ, D. **Mycorrhizal symbiosis**. 3 ed. London: Academic Press. 2008.

THIENGO, C. C., GALINDO, F. S., BERNARDES, J. V. S., DA ROCHA, L. O., DA SILVA, C. D., BURAK, D. L., LAVRES, J. Nitrogen fertilization regulates crosstalk between marandu palisadegrass and *Herbaspirillum seropedicae*: An investigation based on ^{15}N isotopic analysis and root morphology. **Environmental Research**, Maryland Heights, v. 249, 118345, 2024.

TRIVEDI, P.; LEACH, J. E.; TRINGE, S. G.; SA, T.; SINGH, B. K. Plant–microbiome interactions: From community assembly to plant health. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 18, p. 607-621, 2020.

2 ÍNDICE DE SUPERIORIDADE PARA SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO EM MILHO E FEIJÃO

RESUMO

Os microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP) podem aumentar a produtividade das culturas de forma sustentável. Apesar de alguns microrganismos já estarem disponíveis para uso agrícola, existem outros em coleções que têm o mesmo potencial para uso. Objetivou-se classificar diferentes MPCP de coleções brasileiras em milho e feijão de acordo com sua capacidade de estimular o crescimento das plantas. Um experimento de inoculação com diferentes MPCP foi instalado em vasos, em delineamento em blocos casualizados com três repetições, nas culturas do milho e do feijão. Os tratamentos foram: T1 – testemunha não inoculada, T2 – *Azospirillum brasilense*, T3 – *Azomonas macrocytogenes*, T4 – *Azorhizobium caulinodans*, T5 – *Azotobacter beijerinckii*, T6 – *Bacillus amyloliquefaciens*, T7 – *B. aryabhattai* (UNICAMP), T8 – *B. aryabhattai* (EMBRAPA), T9 – *B. pulmilus*, T10 – *B. subtilis*, T11 – *Beijerinckia doebereineriae*, T12 – *Burkholderia vietnamiensis*, T13 – *Gluconacetobacter diazotrophicus*, T14 – *Herbaspirillum seropedicae*, T15 – *Nitrospirillum amazonense*, T16 – *Pseudomonas fluorescens* e T17 – *Trichoderma harzianum*. Foram avaliados caracteres de crescimento, teor e acúmulo de nitrogênio e fósforo na parte aérea, compostos nitrogenados e clorofila total das folhas. Foi proposto um índice de superioridade para comparação geral entre os microrganismos, considerando todos os caracteres avaliados nas duas culturas. Observou-se que as bactérias *N. amazonense*, *Bur. vietnamiensis*, *A. macrocytogenes* e *B. aryabhattai* (UNICAMP) foram as melhores bactérias testadas, apresentando índices de superioridade superiores à *Az. brasilense* e ao tratamento testemunha não inoculada.

Palavras-chave: *Nitrospirillum amazonense*; *Burkholderia vietnamiensis*; *Azomonas macrocytogenes*; *Zea mays* L.; *Phaseolus vulgaris* L

2.1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é a terceira mais relevante em área cultivada e quantidade produzida no mundo, sendo superado apenas pelo trigo e arroz. São estimados aproximadamente 3500 usos diferentes para o milho, incluindo alimentação humana e animal, produção de combustíveis, excipientes de medicamentos, cosméticos e polímeros (Miranda *et al.*, 2018). A cultura do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), por sua vez, tem grande relevância no Brasil e no mundo, sendo consumido em diversos países, principalmente na África Oriental e América Latina (Blair *et al.*, 2010; Barbosa; Gonzaga,

2012). Por isso, o feijão é considerado a leguminosa de maior importância mundial quando se refere ao consumo direto pelo ser humano (HARVESTPLUS, 2009).

Uma das ferramentas disponíveis para aumentar a produtividade de forma sustentável são os microrganismos promotores de crescimento de plantas que proporcionam benefícios diretos e indiretos a elas (Hungria *et al.*, 2010). Esses benefícios podem ser pela fixação de nitrogênio (N), como ocorre no caso da bactéria *Azospirillum brasilense*, que permite uma redução de cerca de 25% da adubação nitrogenada no milho (Hungria *et al.*, 2022), ou da *Nitrospirillum amazonense*, utilizada como inoculante de cana-de-açúcar no Brasil (EMBRAPA, 2018). Outros mecanismos de promoção de crescimento envolvem produção de fitormônios que aumentam o crescimento da raiz e da parte aérea do vegetal, aumentando a captação de nutrientes pela planta (Antoun *et al.*, 1998; Asghar *et al.*, 2002), solubilização de fosfato (Rodriguez *et al.*, 2004), mineralização de fósforo (P) orgânico (Park *et al.*, 2005), produção de metabólitos, como antibióticos, sideróforos, ácido hidrociânico, quitinase e glucanase, que reduzem a ocorrência de doenças (Lazzaretti; Bettiol, 1997; Choudhary *et al.*, 2011; García-Fraile *et al.*, 2015). Há também a produção de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC)-deaminase, que reduz a produção de etileno sob condições de estresse biótico e abiótico, sendo um dos mecanismos mais eficientes para induzir a tolerância das plantas a estes (Orozco-Mosqueda *et al.* 2020).

Além das bactérias *Az. brasilense* e *N. amazonense*, que são conhecidas pela fixação biológica de nitrogênio (FBN) e produção de fitormônios (Fukami *et al.*, 2016; Schwab *et al.*, 2018), também existem outros gêneros e espécies que produzem substâncias promotoras de crescimento, solubilizam P e protegem contra patógenos, como o gênero *Pseudomonas*, que produz fitormônios e ACC-deaminase (Naik *et al.*, 2008; Nascimento *et al.*, 2019), o gênero *Bacillus*, com espécies produtoras de compostos orgânicos voláteis e metabólitos secundários bioativos com atividade antagonista perante a patógenos (Toyota, 2015; Andric *et al.*, 2020) e o fungo *Trichoderma harzianum*, um agente de biocontrole de fungos fitopatogênicos muito eficaz (Chagas *et al.*, 2015; Altomare *et al.* 1999; Hermosa *et al.*, 2012; Asad, 2022).

Porém existem vários outros microrganismos benéficos conhecidos ainda não explorados comercialmente. Somente na coleção da EMBRAPA – Agrobiologia, existem cerca de 200 espécies diferentes de microrganismos disponíveis para estudo (EMBRAPA, 2014). Dentre eles, bactérias pouco estudadas como *Azomonas macrocytogenes* que fixa N em condições de deficiência de molibdato (Page; Collinson *et al.*, 1987); *Azorhizobium*

caulinodans que realiza FBN com formação de nódulos na leguminosa *Sesbania rostrata* e com estabelecimento endofítico em trigo (Liu *et al.*, 2017) e *Beijerinckia doebereinae*, que fixa N em solos tropicais pobres em fósforo, mas ricos em alumínio (Becking, 1961).

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito de diferentes microrganismos promotores de crescimento de plantas disponíveis em coleções brasileiras em plantas de milho e feijão e, a partir disso, classificar as espécies testadas de acordo com seu potencial benéfico.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

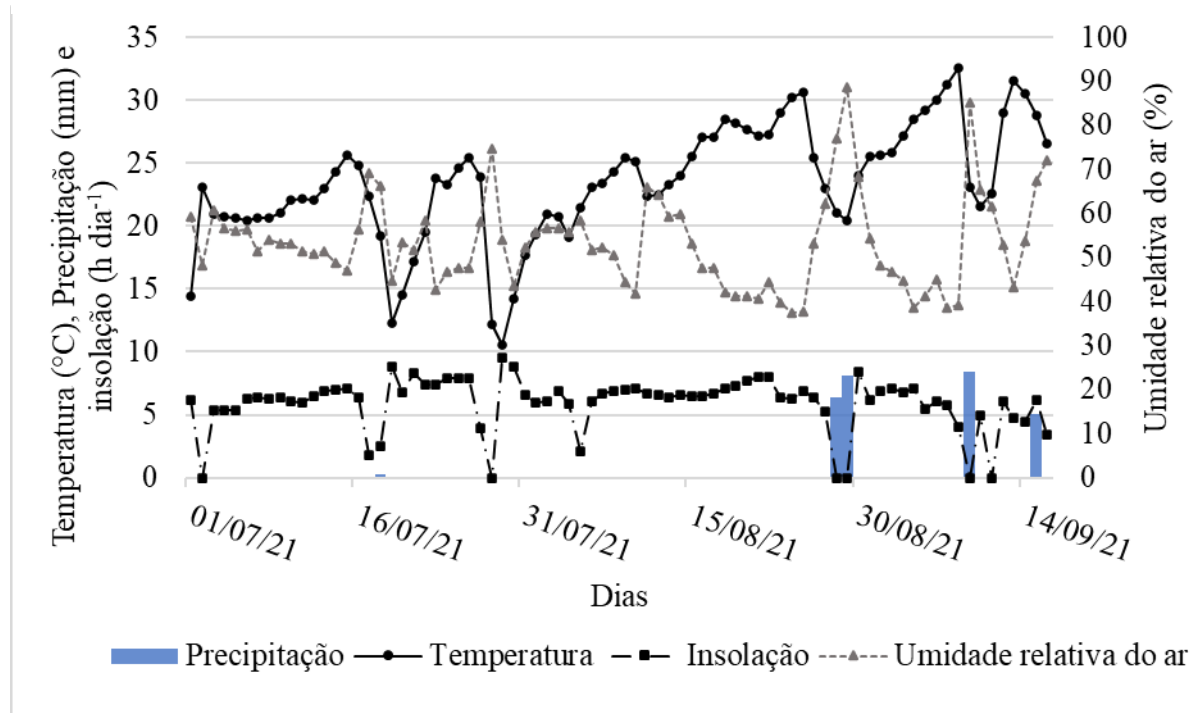
2.2.1 Área experimental

Os experimentos foram realizados no ano de 2021, na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/SP, no Departamento de Fitoecnia, Tecnologia de Alimentos e Socioeconomia. A localização aproximada dos experimentos é dada pelas coordenadas geográficas 20° 25' 9" de latitude Sul e 51° 20' 23" de longitude Oeste e altitude aproximada de 380 m.

Plantas de milho e de feijão foram cultivadas em vasos preenchidos com solo da camada de 0,00-0,20 m de profundidade, classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico argiloso (Santos *et al.*, 2018). A análise de fertilidade do solo caracterizou o mesmo com 20 mg dm⁻³ de P (resina), 9 mg dm⁻³ de S-SO₄; 21 g dm⁻³ de matéria orgânica; 5,5 de pH (CaCl₂); 1,3; 25,0; 19,0 e 72,0 mmol_c dm⁻³ de K, Ca, Mg e H⁺Al, respectivamente; 2,6; 37,0; 24,2 e 0,7 mg dm⁻³ de Cu, Fe, Mn e Zn (DTPA), respectivamente; 0,28 mg dm⁻³ de B (água quente) e 39% de saturação por bases. Com base na fertilidade do solo, a área foi corrigida com a calagem, tendo sido aplicada 1 t ha⁻¹ de calcário dolomítico. Dois meses após a calagem, o solo foi coletado para o preenchimento dos vasos.

O clima da região é do tipo Aw segundo a classificação de Köppen (Alvares *et al.*, 2013) e os dados referentes à temperatura média, precipitação pluvial, umidade relativa do ar e insolação durante a execução do experimento estão expressos na Figura 1.

Figura 2.1 Temperatura média (°C), precipitação (mm), insolação (h dia⁻¹) e umidade relativa do ar média (%) no período de execução dos experimentos de milho e de feijão



Fonte: Unesp (2025).

2.2.2 Delineamento experimental e material biológico

Foram realizados concomitantemente dois experimentos, um com milho e outro com feijão. Os experimentos foram realizados com delineamento em blocos casualizados, com 17 tratamentos e três repetições, totalizando 51 parcelas para cada espécie vegetal. Cada unidade experimental foi constituída de um vaso de 8,5 L de volume, com uma planta por vaso para o milho e duas plantas por vaso para o feijão. Os tratamentos consistiram em diferentes microrganismos inoculados nas plantas de milho e feijão: T1 – testemunha não inoculada, T2 – *Azospirillum brasilense*, T3 – *Azomonas macrocytogenes*, T4 – *Azorhizobium caulinodans*, T5 – *Azotobacter beijerinckii*, T6 – *Bacillus amyloliquefaciens*, T7 – *B. aryabhattai* (UNICAMP), T8 – *B. aryabhattai* (EMBRAPA), T9 – *B. pulmilus*, T10 – *B. subtilis*, T11 – *Beijerinckia doebereineriae*, T12 – *Burkholderia vietnamiensis*, T13 – *Gluconacetobacter diazotrophicus*, T14 – *Herbaspirillum seropedicae*, T15 – *Nitrospirillum amazonense*, T16 – *Pseudomonas fluorescens* e T17 – *Trichoderma harzianum*.

Para o milho, foi utilizada a cultivar de híbrido simples AG 7098®, indicado para a região e com alta tolerância para o complexo de enfezamento. As sementes de milho vieram com tratamento químico industrial de metalaxil + tiabendazol + fludioxonil (2,0

+ 15,0 + 2,5 g para 100 kg sementes); deltametrina (0,2 g para 100 kg sementes) e pirimifós metílico (0,8 g para 100 kg sementes). A cultivar de feijão utilizada foi a IAC 1850®, que apresenta arquitetura de planta semiereta e hábito de crescimento indeterminado tipo II. As sementes de feijão não possuíam tratamento químico industrial.

Os inoculantes das espécies *A. macrocytogenes*, *Azorh. caulinodans*, *Azot. beijerinckii*, *Be. doebereineriae*, *Bur. vietnamiensis*, *G. diazotrophicus*, *H. seropedicae* e *N. amazonense* foram obtidos do acervo do Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner (CRB-JD), vinculado à Embrapa Agrobiologia, utilizando-se a cepa referência de cada espécie. Os microrganismos *Az. brasilense*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pulmilus*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* e *T. harzianum* foram obtidos do acervo do Laboratório de Microbiologia Agrícola da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Campus de Jaboticabal. Uma cepa da espécie *B. aryabhattai* foi obtida da Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria (UNICAMP) e uma segunda cepa da mesma espécie foi utilizada a partir de produto comercial disponível no Brasil (Auras®, cepa EMBRAPA).

Todos os microrganismos utilizados foram produzidos no Laboratório de Microbiologia Agrícola da FCAV/UNESP, cujos métodos de multiplicação dos microrganismos estão disponíveis na Tabela Suplementar S2.1. Foram utilizados inoculantes bacterianos com concentração mínima de 1×10^7 unidades formadoras de colônia (UFC) mL⁻¹ e um inoculante fúngico (*T. harzianum*) contendo 4×10^8 conídios mL⁻¹.

2.2.3 Condução do experimento

A semeadura do experimento de milho ocorreu no dia 01/07/2021. Inicialmente os vasos foram adubados segundo a recomendação de Raij e Cantarella (1997) para a cultura do milho, com expectativa de produtividade de 8-10 t ha⁻¹ e considerando baixa resposta ao N. Assim, foi aplicado o fertilizante 08-28-16 (NPK) na dose de 220 kg ha⁻¹, o que correspondeu à 3,7 g do fertilizante por vaso, fazendo a correspondência da dose do fertilizante considerando a população de 60000 plantas ha⁻¹ em campo para uma planta por vaso. O fertilizante granulado foi depositado em dois sulcos de aproximadamente 5 cm de profundidade feitos no solo de cada vaso, sendo depois recobertos com fina camada de solo.

Em seguida, foram separados 17 grupos de 50 sementes de milho, de modo que cada um deles correspondeu à um tratamento distinto. O grupo referente ao T1 não

recebeu nenhuma inoculação, enquanto os grupos referentes aos tratamentos seguintes foram inoculados cada um com a espécie microbiana correspondente ao seu tratamento. Foram realizadas três inoculações em cada vaso: uma na semente e duas foliares.

Para a inoculação via semente, foi adicionado 0,5 mL do inoculante correspondente a cada tratamento aos grupos de 50 sementes, que foram agitados para recobrimento uniforme das sementes. As sementes foram deixadas para secar e finalmente se realizou a semeadura. Para isso, foram colocadas 4 sementes em cada um dos dois sulcos que receberam o fertilizante em cada vaso, totalizando 8 sementes por vaso. Em seguida, as sementes foram recobertas com solo e cada vaso foi irrigado com 0,5 L de água.

A emergência da cultura ocorreu no dia 06/07/2021 e no dia 23/07/2021, aos 17 dias após a emergência (17 DAE), com as plantas em V₄, foi realizado o desbaste, deixando-se 1 planta de milho por vaso (a mais vigorosa). Após essa operação foi realizada a primeira inoculação foliar das plantas, com dose de 1 L ha⁻¹ do inoculante e volume de calda de 300 L ha⁻¹. Para isso, foi feita aplicação de 5 mL de suspensão bacteriana e suspensão de conídios (no caso de *T. harzianum*) por vaso, sendo a aplicação dirigida para as folhas da planta e o solo, simulando uma pulverização mecanizada em campo. A segunda inoculação foliar foi realizada no dia 09/08/2021, da mesma forma que a primeira, com as plantas em V₈.

A adubação nitrogenada e potássica de cobertura da cultura foi realizada de forma parcelada, quando as plantas se encontravam no estágio V₄ e V₈, com aplicação de 100 kg ha⁻¹ de N e 75 kg ha⁻¹ de K₂O no total. Isso foi feito aplicando-se 1,7 g de ureia + 1,1 g de KCl por vaso no dia 27/07/2021 (V₄) e no dia 10/08/2021, foi realizada a aplicação de 1,7 g de ureia + 1,0 g de KCl por vaso. O florescimento feminino da cultura ocorreu em 16/09/2021 e, nessa data, as avaliações finais foram realizadas.

No caso do feijão, a semeadura foi realizada no dia 02/07/2021 e a adubação foi realizada de acordo com a análise de solo e expectativa de produtividade de 2,5-3,5 t ha⁻¹, considerando baixa resposta ao N, de acordo com a recomendação de Ambrosano *et al.* (1997). Isso resultou na aplicação de 145 kg ha⁻¹ do fertilizante 08-28-16 (NPK), ou seja, 1,2 g por vaso do fertilizante, fazendo a correspondência da dose do fertilizante considerando a população de 250000 plantas ha⁻¹ em campo para duas planta por vaso. Da mesma forma que no milho, foram realizados dois sulcos de 5 cm de profundidade em cada vaso, onde adicionou-se o fertilizante, recobrindo-o com uma fina camada de solo.

As sementes de feijão foram inicialmente tratadas com piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil (5,0 + 45,0 + 50,0 g para 100 kg de sementes). Para a inoculação via

semente, foram feitos 17 grupos de 50 sementes, aos quais adicionou-se 0,5 mL do inoculante referente a cada tratamento (o grupo de sementes do T1 não recebeu nenhuma aplicação) e as sementes foram deixadas para secar. Após isso, foi realizada a semeadura, adicionando-se cinco sementes de feijão em cada sulco, ou seja, 10 sementes por vaso e recobrando-as com solo. Finalmente foi feita a irrigação dos vasos com 0,5 L de água por vaso.

A emergência da cultura ocorreu no dia 09/07/2021 e no dia 23/07/2021, aos 14 dias após a emergência (14 DAE), foi realizado o desbaste das plantas, deixando-se duas plantas por vaso, mantendo-se as duas plantas mais vigorosas do vaso.

No dia 27/07/2021, quando as plantas se encontravam em V₃, foi realizada a primeira inoculação foliar das plantas, com dose de 1 L ha⁻¹ do inoculante e volume de calda de 300 L ha⁻¹, ou seja, aplicação de 2,5 mL de suspensão bacteriana ou suspensão de conídios por vaso. A aplicação foi dirigida para as folhas das plantas e o solo, assim como no milho. A segunda inoculação foliar das plantas foi realizada no dia 09/08/2021, da mesma forma que a primeira, com as plantas em V₄₋₅.

A adubação nitrogenada e potássica de cobertura da cultura foi realizada no dia 30/07/2021, quando as plantas se encontravam no estágio V₄₋₄, com aplicação de 0,72 g de ureia + 0,40 g de KCl por vaso, correspondendo à 40 kg ha⁻¹ de N e 27 kg ha⁻¹ de K₂O no total. O florescimento feminino da cultura ocorreu no 01/09/2021 e as avaliações finais foram realizadas nesta data.

Não foi necessária a aplicação de fungicidas e inseticidas ao longo do ciclo da cultura do milho e do feijão e o controle de plantas daninhas foi feito com o arranquio manual das mesmas em todos os vasos.

2.2.4 Avaliações

As avaliações de caracteres de crescimento e despenho das plantas de milho foram realizadas aos 72 DAE e no feijão aos 54 DAE. Os caracteres de crescimento vegetativo diâmetro basal do colmo (DCol) e altura de planta (AltP) foram realizados apenas para o milho. A massa seca de raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA) e o volume de raiz (VolR) foram avaliados para ambas as culturas. O VolR foi medido pelo método de deslocamento de água (Martins *et al.*, 2011). Além disso, determinou-se o índice de clorofila foliar (ICF) por meio de duas leituras com clorofilômetro portátil (ClorofiLOG®, modelo CFL 1030) no terço médio dos limbos da folha oposta e abaixo da espiga da planta em cada vaso no

milho (2 leituras por vaso), e dos três trifólios da última folha totalmente expandida de cada planta de feijão em cada vaso (6 leituras por vaso) no caso do feijão. Em seguida, avaliaram-se as concentrações de clorofila total (ClorT) de acordo com o método Lichtenthaler e Wellburn (1983).

Avaliou-se a concentração de N (CNitro) e de P (CFos) na parte aérea, com amostras secas e moídas das plantas de cada parcela, segundo metodologia de Malavolta, Vitti e Oliveira (1997), e o acúmulo de N e P foi estimado multiplicando-se o teor de cada nutriente pelos valores de MSPA e convertendo o resultado para g planta⁻¹. Para a quantificação de compostos nitrogenados, as folhas frescas (terço médio da folha oposta e abaixo da espiga principal no caso do milho e última folha totalmente expandida no caso do feijão) foram coletadas e congeladas. A extração dos compostos nitrogenados foi feita de acordo com a metodologia de Bieleski e Turner (1966). Com a fase aquosa, foi realizada a quantificação de nitrato, amônia, ureídeos totais (Ure) e suas frações alantoína (Alan) e ácido alantóico (AcdAlan) e aminoácidos (AA), de acordo com os métodos descritos por Cataldo *et al.* (1975), McCullough (1967), Vogels e Drift (1970) e Yemm *et al.* (1955), respectivamente.

2.2.5 Análise estatística

Os resultados foram submetidos ao teste F da Análise de Variância (ANAVA) e, quando houve significância ($p < 0,05$), foi realizado o teste de Scott-Knott (5%) para comparação de médias, utilizando o software estatístico SISVAR® (Ferreira, 2019).

2.2.6 Classificação dos microrganismos

Para realizar a classificação dos microrganismos, esse trabalho propõe a adoção de um método de ranqueamento das espécies utilizadas, de modo a evitar subjetividade na determinação dos melhores microrganismos para promoção do crescimento das plantas e considerar múltiplos caracteres de importância para as culturas. Na área do melhoramento genético, para a obtenção de genótipos superiores, é preciso reunir um conjunto de atributos favoráveis, pois a seleção baseada em uma ou poucas características é inadequada (Cruz *et al.*, 2004; Garcia; Souza Júnior, 1999). Dessa forma, neste trabalho, utilizou-se o índice baseado em soma de "ranks", conforme proposto por Mulamba e Mock (1978), por ser um dos índices mais usados na área de melhoramento genético.

Foi realizado o cálculo de superioridade em relação à média geral em cada variável do seguinte modo: quando não houve diferença significativa para a variável, não houve pontuação para os tratamentos (pontuação 0,0). Quando houve diferença significativa, foi calculada a média dos tratamentos do ‘grupo a’, a média dos tratamentos do ‘grupo b’ e assim sucessivamente de acordo com o teste de comparação de médias (Equações 1 e 2). Em seguida, foi realizada a divisão da média de cada grupo de tratamentos (grupo a, grupo b, etc.) pela média geral da variável para definir o Índice de Superioridade (ISM para milho e ISF para feijão) daquele grupo de tratamentos em relação à média geral da variável (Equações 3 e 4).

Média Milho Grupo $x_{\text{Variável } y}$

$$= \sum_n^1 (\text{Média de cada tratamento do grupo } x \text{ na cultura do milho}) / n \quad (1)$$

Média Feijão Grupo $x_{\text{Variável } y}$

$$= \sum_n^1 (\text{Média de cada tratamento do grupo } x \text{ na cultura do feijão}) / n \quad (2)$$

ISM Grupo $x_{\text{Variável } y}$

$$= \text{Média Milho Grupo } x_{\text{Variável } y} / \text{Média geral da variável } y \text{ na cultura do milho} \quad (3)$$

ISF Grupo $x_{\text{Variável } y}$

$$= \text{Média Feijão Grupo } x_{\text{Variável } y} / \text{Média geral da variável } y \text{ na cultura do feijão} \quad (4)$$

Os termos x , n e z representam, respectivamente, cada grupo de médias definido pelo teste de Scott-Knott a partir de ‘a’ dentro da cultura analisada, o número de tratamentos presentes no grupo e cada variável com diferença significativa pela análise de variância para a cultura analisada.

Os ISM e ISF obtidos foram atribuídos aos seus respectivos tratamentos e passaram a ser chamados de $ISM_{\text{tratamento } z_{\text{variável } y}}$ e $ISF_{\text{tratamento } z_{\text{variável } y}}$. Com isso, foi calculado o Índice Parcial de cada tratamento para cada cultura ($IPM_{\text{tratamento } z}$ e $IPF_{\text{tratamento } z}$, que se referem ao Índice Parcial do tratamento ‘z’ na cultura do Milho e do Feijão, respectivamente), utilizando-se os índices de superioridades de cada tratamento ‘z’ em cada variável ‘y’, de modo que as variáveis vegetativas tiveram peso 2 enquanto as nutricionais e fisiológicas tiveram peso 1 (Equações 5 e 6). Por fim calculou-se a soma dos Índices Parciais do milho e do feijão, resultando no Índice Final de Superioridade ($IFS_{\text{tratamento } z}$) do tratamento ‘z’ (Equação 7).

$$\begin{aligned} \text{IPM}_{\text{tratamento z}} = & 2x(\text{ISM}_{\text{tratamento z_MSA}} + \text{ISM}_{\text{tratamento z_MSR}} + \text{ISM}_{\text{tratamento z_VolR}} \\ & + \text{ISM}_{\text{tratamento z_DCol}} + \text{ISM}_{\text{tratamento z_AltP}}) \\ & + 1x(\text{ISM}_{\text{tratamento z_ICF}} + \text{ISM}_{\text{tratamento z_AcumN}} + \text{ISM}_{\text{tratamento z_AcumP}} \\ & + \text{ISM}_{\text{tratamento z_nitrato}} + \text{ISM}_{\text{tratamento z_amônia}} + \text{ISM}_{\text{tratamento z_ure}} \\ & + \text{ISM}_{\text{tratamento z_aa}} + \text{ISM}_{\text{tratamento z_Clor}}) \quad (5) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{IPF}_{\text{tratamento z}} = & 2x(\text{ISF}_{\text{tratamento z_MSA}} + \text{ISF}_{\text{tratamento z_MSR}} + \text{ISF}_{\text{tratamento z_VolR}}) \\ & + 1x(\text{ISF}_{\text{tratamento z_ICF}} + \text{ISF}_{\text{tratamento z_AcumN}} + \text{ISF}_{\text{tratamento z_AcumP}} \\ & + \text{ISF}_{\text{tratamento z_nitrato}} + \text{ISF}_{\text{tratamento z_amônia}} + \text{ISF}_{\text{tratamento z_ure}} + \text{ISF}_{\text{tratamento z_aa}} \\ & + \text{ISF}_{\text{tratamento z_Clor}}) \quad (6) \end{aligned}$$

$$\text{IFS}_{\text{tratamento z}} = \text{IPM}_{\text{tratamento z}} + \text{IPF}_{\text{tratamento z}} \quad (7)$$

Entende-se que esse índice concentra os méritos e os deméritos de cada tratamento para os caracteres selecionados e que valores mais altos indicam os melhores tratamentos.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Milho

Houve aumento da matéria seca da parte aérea das plantas pela inoculação com *A. macrocytogenes*, *Azorh. caulinodans*, *B. aryabhattai* (UNICAMP), *Be. doebereineriae* e *Bur. vietnamiensis*, que foram superiores a todos os outros microrganismos inoculados e ao tratamento testemunha (Tabela 2.1). A MSR de milho foi incrementada com a inoculação de *Azorh. caulinodans*, *B. aryabhattai* (UNICAMP), *B. pulmilus*, *B. subtilis*, *Bur. vietnamiensis*, *G. diazotrophicus*, *N. amazonense* e *T. harzianum*. O VolR das plantas de milho foi influenciado pelos microrganismos inoculados, de modo que os maiores volumes foram obtidos com a inoculação de *A. macrocytogenes*, *Azot. beijerinckii*, *B. aryabhattai* (UNICAMP e EMBRAPA), *B. pulmilus*, *B. subtilis*, *Be. doebereineriae*, *Bur. vietnamiensis*, *N. amazonense* e *T. harzianum*, que se igualaram ao tratamento testemunha. O DCol, a AltP e o ICF não foram influenciados pelas inoculações testadas e tiveram valores médios de 23,14 mm, 163,31 cm e 35,25, respectivamente.

Para a CNitro na parte aérea, os maiores valores encontrados foram no tratamento testemunha e nas plantas inoculadas com as bactérias *A. macrocytogenes*, *Azorh. caulinodans*, *Azot. beijerinckii*, *B. subtilis*, *Be. doebereineriae*, *Bur. vietnamiensis* e *H. seropedicae*. Para o acúmulo de N na parte aérea da planta, os mesmos tratamentos foram

superiores, excluindo-se *B. subtilis*. O acúmulo de P na parte aérea foi influenciado pelos tratamentos, com maiores valores para a testemunha e as inoculações com *A. macrocytogenes*, *Azorh. caulinodans*, *Azot. beijerinckii*, *B. aryabhattai* (UNICAMP), *B. subtilis*, *Be. doebereineriae* e *Bur. vietnamiensis*.

As maiores concentrações de nitrato foram verificadas com as inoculações de *Az. brasilense*, *B. subtilis*, *G. diazotrophicus*, *P. fluorescens* e *T. harzianum*, sendo superiores à testemunha (menor concentração de nitrato) e às inoculações com outras bactérias. Para a concentração de amônia nas folhas, *Az. brasilense* foi o melhor tratamento, seguido da inoculação com *A. macrocytogenes*. Ressalta-se que a testemunha se situa no grupo com as menores médias. No que se refere à Ure e seus componentes Alan e AcdAlan, somente a concentração foliar de AcdAlan foi influenciada pelos tratamentos. Nesse parâmetro as inoculações com *Az. brasilense*, *Azorh. caulinodans*, *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens*, *P. fluorescens* e *T. harzianum*, juntamente com a testemunha foram superiores aos outros tratamentos.

A concentração foliar de AA foi superior nas inoculações com *A. macrocytogenes*, *Azot. beijerinckii*, *B. aryabhattai* (UNICAMP), *B. pulmilus*, *B. subtilis*, *Be. doebereineriae* e *N. amazonense*. Em relação à ClorT, a maior média ocorreu com o uso de *B. aryabhattai* (UNICAMP) e *N. amazonense*, seguido por *T. harzianum*. O menor valor de ClorT foi observado com a inoculação de *H. seropedicae*, seguido, a inoculação de *B. aryabhattai* (EMBRAPA).

Tabela 2.1 Caracteres de crescimento vegetativo, nutricionais e fisiológicos de plantas de milho após inoculação com diferentes microrganismos promotores de crescimento de plantas

Inoculação	MSPA ⁺	MSR ⁺	VolR ⁺	DCol	AltP	ICF	CNitro ⁺	AcumN	CFos	AcumP	Nitrato	Amônia	Ure	AcdAlan	Alan	AA ⁺	ClorT
Testemunha	144,83 b	83,50 b	646,67 a	24,28	152,67	35,90	10,43 a	1,50 a	2,32	0,34 a	537,87 d	4,27 e	1,38	0,113 a	1,27	0,500 b	104,45 i
<i>Azospirillum brasilense</i>	135,24 b	68,27 b	603,33 b	22,34	164,67	36,73	9,13 b	1,24 b	2,06	0,28 b	1457,93 a	5,71 a	2,15	0,123 a	2,03	0,607 b	120,24 c
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	149,31 a	80,30 b	646,67 a	22,41	152,33	34,35	11,04 a	1,64 a	2,39	0,36 a	754,50 d	5,28 b	1,68	0,093 b	1,59	0,697 a	107,54 h
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	160,82 a	92,23 a	603,33 b	23,46	167,00	34,15	10,52 a	1,68 a	2,37	0,38 a	713,84 d	3,18 g	1,89	0,120 a	1,78	0,557 b	102,40 j
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	144,75 b	74,57 b	650,00 a	23,07	161,67	34,78	10,71 a	1,55 a	2,26	0,33 a	764,18 d	3,01 g	1,68	0,117 a	1,57	0,667 a	108,86 g
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	132,83 b	81,37 b	576,67 b	21,97	174,00	36,53	9,06 b	1,19 b	2,10	0,28 b	868,49 c	3,79 e	1,97	0,117 a	1,86	0,623 b	117,77 d
<i>Bacillus aryabhattai</i> (UNICAMP)	154,29 a	94,67 a	676,67 a	21,15	173,00	38,88	8,87 b	1,36 b	2,06	0,32 a	1078,65 c	4,10 e	1,72	0,083 b	1,64	0,770 a	130,46 a
<i>Bacillus aryabhattai</i> (EMBRAPA)	142,77 b	80,50 b	641,67 a	22,37	170,67	34,50	9,66 b	1,37 b	1,90	0,27 b	1025,77 c	3,97 e	2,00	0,093 b	1,91	0,530 b	94,22 k
<i>Bacillus pulmilus</i>	142,18 b	94,67 a	636,67 a	23,23	167,33	33,17	9,26 b	1,31 b	2,12	0,30 b	672,09 d	3,53 f	1,72	0,100 b	1,62	0,710 a	111,87 f
<i>Bacillus subtilis</i>	129,10 b	100,80 a	670,00 a	23,42	156,00	32,97	11,01 a	1,43 b	2,50	0,32 a	1383,02 a	3,80 e	2,20	0,093 b	2,11	0,733 a	106,92 h
<i>Beijerinckia doebereineriae</i>	155,08 a	81,03 b	638,33 a	23,74	156,33	33,45	10,27 a	1,59 a	2,23	0,35 a	756,03 d	5,15 c	1,89	0,090 b	1,80	0,663 a	102,53 j
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	163,97 a	96,60 a	688,33 a	24,49	161,33	33,98	10,83 a	1,80 a	2,52	0,41 a	1012,94 c	3,55 f	1,56	0,093 b	1,47	0,657 b	117,51 d
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	128,05 b	89,43 a	553,33 b	22,08	169,00	35,27	10,05 b	1,28 b	2,20	0,28 b	1438,38 a	3,62 f	1,81	0,070 b	1,74	0,613 b	117,00 d
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	130,16 b	68,00 b	603,33 b	24,16	164,00	40,03	11,58 a	1,51 a	2,19	0,29 b	1215,69 b	4,59 d	1,66	0,103 b	1,56	0,637 b	94,36 k
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	136,99 b	124,30 a	760,00 a	24,13	159,33	35,80	9,94 b	1,36 b	2,08	0,28 b	1220,50 b	4,95 c	1,71	0,103 b	1,61	0,737 a	129,41 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	134,64 b	63,40 b	600,00 b	23,83	158,67	32,23	9,92 b	1,33 b	1,88	0,25 b	1536,26 a	4,97 c	1,98	0,120 a	1,86	0,567 b	113,30 e
<i>Trichoderma harzianum</i>	136,08 b	93,43 a	673,33 a	23,17	168,33	36,48	8,63 b	1,17 b	2,09	0,28 b	1480,26 a	3,82 e	2,26	0,117 a	2,14	0,610 b	124,11 b
ANAVA (p-valor)																	
Inoculação	0,067	0,024	0,016	0,116	0,534	0,859	0,078	0,032	0,105	0,011	<0,001	<0,001	0,391	0,025	0,422	0,049	<0,001
Média	142,42	86,30	639,31	23,14	163,31	35,25	10,05	1,43	2,19	0,31	1053,95	4,19	1,84	0,103	1,74	0,640	111,94
CV(%)	9,92	19,59	8,39	5,56	7,39	13,11	11,01	14,91	11,31	15,15	10,55	5,35	21,26	17,05	22,53	14,55	0,58

Nota: Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott à 5%. ⁺ Teste de Scott Knott à 10%. MSA: massa seca da parte aérea (g planta⁻¹); MSR: massa seca de raiz (g planta⁻¹); VolR: volume de raiz (mL planta⁻¹); Dcol: Diâmetro do colmo (mm); AltP: Altura de planta (cm); ICF: índice de clorofila foliar; CNitro: Concentração de nitrogênio na parte aérea (g kg⁻¹ de massa seca); AcumN: acúmulo de nitrogênio na parte aérea (g planta⁻¹); CFos: concentração de fósforo na parte aérea (g kg⁻¹ de massa seca); AcumP: acúmulo de fósforo na parte aérea (g planta⁻¹); Nitrato, Amônia, Ure, AcdAlan e Alan: concentração de nitrato, amônia, ureídeos, ácido alantóico e alantoína na folha (ug g⁻¹ massa fresca), respectivamente; AA: concentração de aminoácidos na folha (mg g⁻¹ massa fresca); ClorT: clorofilas totais (ug mL⁻¹). CV(%): coeficiente de variação. Fonte: Dados do próprio autor.

2.3.2 Feijão

A MSPA foi beneficiada nos tratamentos inoculados com *Azorh. caulinodans*, *Azot. beijerinckii*, *B. aryabhattai* (UNICAMP), *Be. doebereinae*, *G. diazotrophicus*, *H. seropedicae* e *N. amazonense*, sendo superiores às outras inoculações e ao tratamento testemunha (Tabela 2.2). A MSR foi influenciada pelas inoculações, sendo maior quando se aplicou *A. macrocytogenes*, *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai* (UNICAMP), *B. pulmilus*, *B. subtilis*, *N. amazonense*, *P. fluorescens* e *T. harzianum*.

O ICF, as concentrações e o acúmulo de N e P não foram influenciados pelas inoculações. No que se refere aos compostos nitrogenados do feijão, se verificou maior concentração foliar de nitrato com a inoculação de *Az. brasilense*, *Be. doebereinae*, *G. diazotrophicus*, *H. seropedicae* e *T. harzianum*, que foram estatisticamente iguais ao tratamento testemunha. A maior concentração de amônia foi encontrada no tratamento testemunha, seguido depois pelas inoculações com *Bur. vietnamiensis* e *T. harzianum*.

Ao contrário do observado no milho para Ure, houve influência dos tratamentos, de modo que a inoculação de *A. macrocytogenes* resultou em maior concentração foliar desses compostos, sendo seguido por *Az. brasilense*, *Azorh. caulinodans*, *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens* e *B. aryabhattai* (UNICAMP), que foram semelhantes ao tratamento testemunha. Para o componente AcdAlan, a inoculação de *H. seropedicae* resultou em maior teor foliar desse composto, seguido pelas inoculações de *B. aryabhattai* (UNICAMP), *Be. doebereinae*, *G. diazotrophicus*, *H. seropedicae* e *T. harzianum*. Por fim, a concentração de Alan foi maior com a inoculação de *A. macrocytogenes*, seguida pelas inoculações de *Az. brasilense*, *Azorh. caulinodans*, *Azot. beijerinckii*, *B. aryabhattai* (UNICAMP e EMBRAPA), além da testemunha.

Da mesma forma que no milho, a concentração de AA foliar do feijão foi influenciada pelas inoculações, sendo maior quando as plantas foram inoculadas com *Az. brasilense*, *Azot. beijerinckii*, *Be. doebereinae*, *Bur. vietnamiensis* e *T. harzianum*. Os demais tratamentos resultaram em valores menores para esse caractere. Para o ClorT, os menores teores foram observados na testemunha e com *Azorh. caulinodans*, *G. diazotrophicus* e *T. harzianum*. As inoculações com *Az. brasilense*, *B. amyloliquefaciens*, *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense* resultaram em maiores médias de ClorT nas folhas de feijão.

Tabela 2.2 Caracteres de crescimento vegetativo, nutricionais e fisiológicos de plantas de feijão após inoculação com diferentes microrganismos promotores de crescimento de plantas

Inoculação	MSPA	MSR	VolR	ICF	CNitro	AcumN	CFos	AcumP	Nitrato	Amônia	Ure	AcdAlan	Alan	AA	ClorT
Testemunha	9,68 b	8,26 b	143,33	36,24	28,23	0,27	3,56	0,034	302,47 a	7,71 a	2,42 b	0,25 c	2,17 b	0,053 b	5,88 e
<i>Azospirillum brasilense</i>	10,86 b	12,29 b	166,67	34,67	29,31	0,32	3,70	0,040	293,91 a	5,76 c	2,40 b	0,20 c	2,20 b	0,068 a	44,07 a
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	11,17 b	15,78 a	166,67	33,16	28,68	0,32	3,73	0,042	169,21 b	5,34 d	3,08 a	0,25 c	2,83 a	0,061 b	38,60 b
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	12,22 a	14,13 b	210,00	32,51	26,30	0,32	3,92	0,048	223,70 b	4,61 e	2,58 b	0,24 c	2,33 b	0,060 b	7,10 e
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	11,78 a	15,80 a	170,00	35,12	27,93	0,35	3,74	0,044	174,41 b	4,00 f	2,66 b	0,22 c	2,44 b	0,077 a	39,66 b
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	11,22 b	15,41 a	178,33	36,18	29,17	0,32	3,84	0,043	195,42 b	3,79 f	2,39 b	0,27 c	2,12 b	0,054 b	51,92 a
<i>Bacillus aryabhattai</i> (UNICAMP)	12,07 a	17,55 a	158,33	34,31	28,65	0,35	3,60	0,043	200,88 b	5,80 c	2,73 b	0,31 b	2,42 b	0,056 b	22,45 c
<i>Bacillus aryabhattai</i> (EMBRAPA)	10,81 b	12,83 b	160,00	33,08	27,25	0,29	3,57	0,039	263,57 b	4,34 f	1,46 e	0,18 c	1,28 d	0,056 b	26,86 c
<i>Bacillus pulmilus</i>	10,98 b	19,13 a	163,33	35,81	30,38	0,33	3,67	0,040	206,68 b	5,92 c	2,12 c	0,23 c	1,88 c	0,040 b	24,07 c
<i>Bacillus subtilis</i>	10,60 b	16,57 a	192,33	36,65	29,30	0,31	3,99	0,042	231,30 b	4,13 f	2,23 c	0,21 c	2,03 c	0,054 b	13,52 d
<i>Beijerinckia doebereineriae</i>	11,95 a	11,00 b	175,67	37,02	28,12	0,30	3,48	0,041	327,83 a	5,48 d	2,63 b	0,30 b	2,33 b	0,066 a	26,52 c
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	11,21 b	12,50 b	171,33	35,43	27,42	0,31	3,68	0,041	208,48 b	6,84 b	2,08 c	0,24 c	1,84 c	0,071 a	50,41 a
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	12,83 a	11,94 b	153,33	36,06	27,16	0,35	3,66	0,047	394,69 a	6,14 c	1,98 c	0,29 b	1,69 c	0,059 b	6,33 e
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	12,47 a	14,43 b	166,67	33,56	26,41	0,35	3,40	0,042	345,03 a	6,07 c	2,21 c	0,37 a	1,79 c	0,050 b	15,16 d
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	11,57 a	21,29 a	221,67	34,91	23,82	0,28	3,46	0,040	263,52 b	5,92 c	1,79 d	0,22 c	1,57 d	0,054 b	47,62 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	11,12 b	19,09 a	165,00	33,96	26,58	0,30	3,65	0,040	248,32 b	4,91 e	2,06 c	0,22 c	1,84 c	0,057 b	28,57 c
<i>Trichoderma harzianum</i>	11,19 b	16,59 a	183,33	34,69	27,67	0,31	3,50	0,039	353,99 a	6,72 b	2,18 c	0,30 b	1,88 c	0,068 a	3,68 e
ANAVA (p-valor)															
Inoculação	0,009	0,002	0,526	0,465	0,492	0,300	0,802	0,260	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,032	<0,001
Média	11,39	14,98	173,29	34,90	27,79	0,32	3,66	0,042	259,02	5,51	2,29	0,25	2,04	0,059	26,61
CV(%)	7,16	21,45	20,16	6,59	9,56	12,01	9,26	11,35	14,92	4,34	8,27	12,74	9,27	17,93	11,16

Nota: Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Scott-Knott (5%). MSPA: massa seca da parte aérea (g planta⁻¹); MSR: massa seca de raiz (g planta⁻¹); VolR: volume de raiz (mL planta⁻¹); ICF: índice de clorofila foliar; CNitro: Concentração de nitrogênio na parte aérea (g kg⁻¹ de massa seca); AcumN: acúmulo de nitrogênio na parte aérea (g planta⁻¹); CFos: concentração de fósforo na parte aérea (g kg⁻¹ de massa seca); AcumP: acúmulo de fósforo na parte aérea (g planta⁻¹); Nitrato, Amônia, Ure, AcdAlan e Alan: concentração de nitrato, amônia, ureídeos, ácido alantóico e alantóina na folha (ug g⁻¹ massa fresca), respectivamente; AA: concentração de aminoácidos na folha (mg g⁻¹ massa fresca); ClorT: clorofilas totais (ug mL⁻¹). CV(%): coeficiente de variação.

Fonte: Dados do próprio autor

2.3.3 Classificação dos microrganismos

Após todos os cálculos propostos, obteve-se os Índices Finais de Superioridade (IFS) de cada tratamento, que foram classificados em ordem decrescente de acordo com seus IFS (Tabela 2.3). As tabelas com todos os cálculos, desde a média dos grupos, índice do grupo, índices parciais do milho e do feijão e os índices finais de cada tratamento, podem ser encontradas no material suplementar desse trabalho (Tabelas Suplementares S2.2-S2.9).

Tabela 2.3 Índices finais e classificação de cada microrganismo, somando-se os índices parciais do milho e do feijão

	Inoculação	IP Milho	IP Feijão	IFS
1	<i>Nitrospirillum amazonense</i>	14,51	9,90	24,41
2	<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	14,83	9,54	24,36
3	<i>Azomonas macrocytogenes</i>	14,53	9,80	24,33
4	<i>Bacillus aryabhattai</i> (UNICAMP)	14,79	9,37	24,16
5	<i>Azospirillum brasilense</i>	13,86	10,03	23,89
6	<i>Beijerinckia doebereineriae</i>	14,42	9,29	23,72
7	<i>Azotobacter beijerinckii</i>	13,74	9,80	23,54
8	<i>Trichoderma harzianum</i>	14,24	9,10	23,34
9	<i>Bacillus subtilis</i>	14,74	8,21	22,95
10	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	12,98	9,67	22,66
11	<i>Bacillus pulmilus</i>	13,51	8,97	22,48
12	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	13,64	8,76	22,40
13	Testemunha	13,71	8,48	22,20
14	<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	13,57	8,52	22,08
15	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	13,85	8,20	22,05
16	<i>Azorhizobium caulinodans</i>	14,06	7,70	21,76
17	<i>Bacillus aryabhattai</i> (EMBRAPA)	13,01	7,64	20,65

Fonte: Dados do próprio autor.

Os valores do índice final de superioridade indicam que o pior tratamento foi com a inoculação de *Bacillus aryabhattai* (EMBRAPA) (17^o), e que a testemunha não inoculada ocupou a 13^a posição na classificação final. Assim, a inoculação de qualquer microrganismo acima da 13^a posição tem um resultado superior à não inoculação na promoção do crescimento das plantas de milho e de feijão, conjuntamente. Por outro lado, pode-se perceber que as melhores bactérias e, portanto, as mais promissoras para testes em campo são *Nitrospirillum amazonense*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Azomonas macrocytogenes* e *Bacillus aryabhattai* (UNICAMP), nessa ordem. Destaca-se que de acordo com esse índice e considerando-se as variáveis analisadas, essas bactérias foram superiores à inoculação com *Az. brasilense*, padrão comercial utilizado em gramíneas e leguminosas para promoção de crescimento das plantas.

2.4 DISCUSSÃO

Este estudo verificou como diferentes MPCP de coleções brasileiras influenciam as plantas de milho e de feijão em seus aspectos nutricionais e fisiológicos, além do próprio desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular das plantas. Para classificar as bactérias, foi proposta uma metodologia inédita: o cálculo de um índice de superioridade para classificação dos tratamentos em função dos resultados estatísticos obtidos em cada variável. Este estudo testa conjuntamente com a finalidade de comparar bactérias bastante estudadas, como *Az. brasilense* e *B. subtilis*, por exemplo, com bactérias pouco estudadas em inoculações com as plantas, apesar de seus conhecidos mecanismos de promoção de crescimento de plantas.

O índice de seleção permitiu análise mais abrangente a respeito do desempenho de cada inoculação nas duas espécies vegetais conjuntamente, indicando que *N. amazonense*, *Bur. vietnamiensis*, *A. macrocytogenes*, *B. aryabhattai* (UNICAMP) e *Az. brasilense* foram as melhores inoculações segundo o índice. No caso do milho, as inoculações proporcionaram modificações na MSPA, MSR, acúmulo de N e P na parte aérea, compostos nitrogenados e clorofila total foliar. No caso do feijão, as inoculações influenciaram a MSPA, MSR, compostos nitrogenados e clorofila total foliar, mas não influenciaram o acúmulo de N e P na parte aérea.

No que se refere ao metabolismo do N, nas associações entre as plantas e microrganismos do solo/rizosfera, a disponibilização do N fixado para as plantas ocorre após a morte das células bacterianas e a lise dos constituintes celulares (Kennedy *et al.*, 2004). Estudos utilizando ^{15}N comprovam a contribuição de bactérias diazotróficas como *Azospirillum* spp.; *Herbaspirillum* spp. e *Gluconacetobacter diazotrophicus*, na nutrição nitrogenada em arroz, milho, sorgo, trigo e cana-de-açúcar (Reis *et al.*, 2006). No presente trabalho, nenhuma das bactérias inoculadas em milho e feijão promoveu um aumento no teor total de N nas plantas. Pelo contrário, em 52,9% das espécies, inclusive a *Az. brasilense*, com demonstrada capacidade de realizar FBN (Hungria *et al.*, 2022), levou a uma redução da CNitro nas plantas de milho em relação à testemunha. Porém foi verificado no presente trabalho aumento nos teores de nitrato, amônia e AA no milho com algumas inoculações. No feijão, algumas das inoculações resultaram em teores de Ure, AcdAlan, Alan e AA maiores que a testemunha. Este fato pode ter sido consequência de as bactérias inoculadas não realizarem FBN o bastante, por não estarem em condições ambientais ótimas (Bashan *et al.*, 2014) ou até mesmo pela inibição decorrente da adubação nitrogenada realizada (Reinprecht *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2019). Além disso, atualmente considera-se que os benefícios de bactérias promotoras de crescimento de plantas são consequência da combinação de mecanismos que, em conjunto, resultam em um

benefício significativo para a planta, conforme a Hipótese dos Mecanismos Múltiplos (Bashan; de-Bashan, 2010). Dobbelaere e Okon (2007) afirmam que os benefícios de *Azospirillum* sobre as plantas decorrem de alterações morfológicas e fisiológicas, como o maior crescimento de raízes, que aumentam a absorção de água e nutrientes. Desse modo, os autores explicam que a inoculação com *Azospirillum* melhora a utilização de N, sem substituir a adubação nitrogenada.

Leguminosas de clima tropical exportam ureídeos da FBN simbiótica (Mothes, 2011; Ohyama e Kumazawa, 1979), mas a forma de assimilação do N biologicamente fixado nas relações associativas com bactérias diazotróficas em gramíneas não é conhecida (Reis *et al.*, 2006), o que explica a ausência de efeitos para Ure no milho. Apesar disso, houve aumento no teor de AcdAlan do milho com as inoculações, isso porque os ureídeos são encontrados a partir da degradação oxidativa dos ácidos nucleicos e suas purinas (Thomas; Schrader, 1981; Werner; Witte, 2011) e as plantas podem usar alantoína e ácido alantóico como moléculas de armazenamento e transporte de N (Takagi *et al.*, 2016). Ou seja, o efeito das inoculações sobre o AcdAlan no milho pode ser devido à influencia desses tratamentos no catabolismo das purinas, que funciona como uma rota fundamental para a reciclagem e remobilização do N (Zrenner *et al.*, 2006; Werner e Witte, 2011). O incremento no ClorT é benéfico porque pode aumentar a eficiência fotossintética da planta (Chappelle; Kim, 1992; Croft *et al.*, 2017).

Neste estudo, verificou-se que *N. amazonense* foi a bactéria que mais beneficiou o crescimento e desempenho das plantas de milho e feijão conjuntamente, considerando o índice de superioridade obtido. Esta bactéria, antes denominada *Azospirillum amazonense*, foi inicialmente isolada de gramíneas na Amazônia e Rio de Janeiro (Magalhães *et al.*, 1983; Lin *et al.*, 2014). A inoculação desta bactéria promoveu aumento dos sistemas radiculares das duas espécies vegetais em relação à testemunha não inoculada, possivelmente devido à sua produção de fitormônios e FBN (Rodrigues *et al.*, 2008). Nesse sentido, Reis Júnior *et al.* (2004) avaliaram que a produção de ácido indol-acético de cepas de *N. amazonense* em condições *in vitro* variaram de 35 a 110 $\mu\text{M ml}^{-1}$. Além da produção de AIA, Terra *et al.* (2020) identificaram a produção de giberelinas, citocinina (zeatina) e sideróforos por essa espécie, o que também pode contribuir com a promoção de crescimento nas plantas.

A bactéria *Bur. vietnamiensis* foi a segunda melhor seguindo a classificação proposta, resultando em maior sistema radicular e MSPA, além de maiores acúmulos de N e P. Semelhante à *N. amazonense*, esses efeitos se devem ao fato de a espécie ser fixadora de N (Santos *et al.*, 2001, Madhaiyan *et al.*, 2008), solubilizadora de P inorgânico, mesmo em condições quentes ou ácidas, chegando a solubilizar até 902 mg de P L^{-1} (Nahas, 1996), e produtora de AIA, mas em menor quantidade que *Az. brasilense* (Aldesuquy, 2000; Perin,

2007). Porém, trata-se de uma espécie com muita similaridade às espécies patogênicas do gênero *Burkholderia*, desestimulando assim sua exploração agrícola (ZHANG *et al.*, 2007).

Em terceiro lugar na classificação, encontra-se a bactéria *A. macrocytogenes*, cujos efeitos encontrados foram o maior desenvolvimento de raízes e maiores teores de Ure no feijão, além de maior MSPA, VolR, acúmulo de N e P e teor de AA foliar no milho. Apesar de pouco estudada, sabe-se que esses resultados decorrem da FBN realizada pela espécie de maneira associativa e com ausência de molibdato (Page; Collinson, 1987) e produção de sideróforos, inclusive um composto fluorescente que se liga ao ferro, denominado azoverdina (Collinson *et al.*, 1987; Collinson *et al.*, 1990).

A bactéria *B. aryabhattai* (UNICAMP) foi classificada como a quarta melhor no presente trabalho, com incrementos na MSPA, MSR e no acúmulo de P nas plantas de milho, além de aumento no AA e ClorT nas folhas de milho. As cepas dessa espécie de bactéria não são capazes de realizar FBN, mas promovem o crescimento vegetal ao solubilizar P inorgânico do solo, produzir sideróforos, acetoína, butanodiol e exopolissacarídeos, além de ácido indol acético, citocininas, giberelinas e ácido abscísico (Bhattacharyya *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2017).

A quinta melhor bactéria foi *Az. brasilense*, bastante estudada e muito utilizada na agricultura brasileira (Bashan; de-Bashan, 2010). A inoculação desta espécie aumentou os teores de nitrato, amônia e AcdAlan do milho, além de nitrato, AA e ClorT no feijão. Esses efeitos se devem ao fato de *Az. brasilense* ser fixadora de N, podendo contribuir com 19,4% do N acumulado no milho (Araújo *et al.*, 2015), solubilizar fosfatos (Rafi *et al.*, 2019) e realizar a síntese de fitormônios, incluindo auxinas (Ljung, 2013; Duca *et al.*, 2014), ácido salicílico, AIA, ácido jasmônico (Fukami *et al.*, 2018), ácido giberélico (Fukami *et al.*, 2017), citocininas (Tien *et al.*, 1979), óxido nítrico (Creus *et al.*, 2005) e poliaminas (Thuler *et al.*, 2003). Além disso, a bactéria aumenta a proteção contra estresses abióticos das plantas, aumentando a atividade da super-óxido-dismutase, catalase e carotenoides, reduzindo danos por espécies reativas de oxigênio (Bulegon *et al.*, 2016, Heidari; Golpayegani, 2012; Upadhyay *et al.*, 2012).

Dessa forma, verifica-se que os benefícios dos MPCP decorrem de uma soma de fatores, conforme a Hipótese dos Mecanismos Múltiplos. Com o uso do índice de classificação, foi possível determinar como cada microrganismo influencia uma série de parâmetros no desenvolvimento das plantas.

2.5 CONCLUSÃO

Considerando apenas a cultura do milho, as inoculações de *N. amazonense*, *Bur. vietnamiensis*, *A. macrocytogenes* e *B. aryabhattai* (UNICAMP) foram as bactérias mais eficientes na promoção do crescimento e na melhoria de aspectos nutricionais e fisiológicos. Já para a cultura do feijão, os maiores benefícios em crescimento, nutrição e fisiologia das plantas decorreram das inoculações de *N. amazonense*, *A. macrocytogenes*, *Az. brasilense* e *Azot. beijerinckii*.

O índice de seleção proporcionou uma visão abrangente do desempenho das espécies inoculadas e demonstrou que inoculações com as bactérias *N. amazonense*, *Bur. vietnamiensis*, *A. macrocytogenes* e *B. aryabhattai* (UNICAMP) foram superiores à *Az. brasilense*, às outras inoculações utilizadas e ao tratamento testemunha, considerando todos os parâmetros nas culturas do milho e feijão conjuntamente.

Assim, verificou-se grande potencial a ser explorado nas coleções de germoplasma de microrganismos do solo, capazes de contribuir para a promoção do crescimento vegetal e o aumento da sustentabilidade dos sistemas agrícolas. O índice de seleção proposto apresenta um grande potencial para auxiliar na exploração dessas coleções, uma vez que possibilita o estudo de múltiplos parâmetros em diversas espécies vegetais, proporcionando uma visão abrangente dos efeitos de cada microrganismo. Porém, ainda deve ser testado em novos estudos para validar e expandir seu uso.

REFERÊNCIAS

- ALDESUQUY, H. S. Effect of indol-3-yl acetic acid on photosynthetic characteristics of wheat flag leaf during grain filling. **Photosynthetica**, Prague, v. 38, p. 135-141, 2000.
- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, p. 2926–2933, 1999.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; MORAES, G.; LEONARDO, J.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- AMBROSANO, E. J.; WUTKE, E. B.; BULISANI, E. A.; CANTARELLA, H. Feijão. In: RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, Â. M. C. (ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas (IAC), 1997. cap. 19, p. 194-195.
- ANDRIC, S.; MEYER, T.; ONGENA, M. *Bacillus* responses to plant-associated fungal and bacterial communities. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 11, 1350, 2020.
- ANTOUN, H.; BEAUCHAMP, C. J.; GOUSSARD, N.; CHABOT, R.; LALANDE, R. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on no-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.) **Plant and soil**, Dordrecht v. 204, p. 57-67, 1998.
- ARAÚJO, E. O.; MARTINS, M. R.; VITORINO, A. C. T.; MERCANTE, F. M.; URQUIGA, S. S. Effect of nitrogen fertilization associated with diazotrophic bacteria inoculation on nitrogen use efficiency and its biological fixation by corn determined using ¹⁵N. **African Journal of Microbiology Research**, Sapele, v. 9, p. 643-650, 2015.
- ASAD, S. A. Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases - A review. **Ecological complexity**, Amsterdam, v. 49, 100978, 2022.
- ASGHAR, H.; ZAHIR, Z.; ARSHAD, M.; KHALIQ, A. Relationship in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 35, p. 231-237, 2002.
- BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. O. (ed.). **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na Região Central-Brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in Agronomy**, Maryland Heights, v. 108, p. 77-136, 2010.
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E.; PRABHU, S. R.; HERNANDEZ, J. P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). **Plant and Soil**, Dordrecht v. 378, p. 1-33, 2014.

BECKING, J. H. Studies on nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia*: I. geographical and ecological distribution in soils. **Plant and Soil**, Dordrecht v. 14, n. 1, p. 49-81, 1961.

BHATTACHARYYA, C.; BAKSHI, U.; MALLICK, I.; MUKHERJI, S.; BERA, B.; GHOSH, A. Genome-guided insights into the plant growth promotion capabilities of the physiologically versatile *Bacillus aryabhattai* strain AB211. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, 411, 2017.

BIELESKI, R. L.; TURNER, N. A. Separation and estimation of amino acids in crude plants extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia, v. 17, p. 278-293, 1966.

BLAIR, M.; GONZALES, L. F.; KIMANI, P. M.; BUTARE, L. Genetic diversity, inter-gene pool introgression and nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. **Theoretical Applied Genetics**, Heidelberg, v. 121, p. 237-248, 2010.

BULEGON, L. G.; GUIMARÃES, V. F.; LAURETH, J. C. U. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, p. 343-349, 2016.

CATALDO, D. A.; HARRON, M.; SCHRADER, L. E.; YOUNGS, V. L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 6, p. 71-80, 1975.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; CARVALHO, M. R.; MILLER, L. O.; COLONIA, B. S. O. Evaluation of the phosphate solubilization potential of *Trichoderma* strains (Trichoplus JCO) and effects on rice biomass. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Heidelberg, v. 15, n. 3, p. 794-804, 2015.

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for a remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. **Remote Sensing of Environment**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 239- 247, 1992.

CHOUDHARY, D. K.; SHARMA, K. P.; GAUR, R. K. Biotechnological perspectives of microbes in agro-ecosystems. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 33, p. 1905-1910, 2011.

COLLINSON, S. K.; ABDALLAH, M. A.; PAGE, W. J. Temperature-sensitive production of azoverdin, the pyoverdin-like siderophore of *Azomonas macrocytogenes* ATCC 12334. **Microbiology**, London, v. 136, n. 11, p. 2297-2305, 1990.

COLLINSON, S. K.; DORAN, J. L.; PAGE, W. J. Production of 3, 4-dihydroxybenzoic acid by *Azomonas macrocytogenes* and *Azotobacter paspali*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 33, n. 2, p. 169-175, 1987.

CREUS, C. M.; GRAZIANO, M.; CASANOVAS, E. M.; PEREYRA, M. A.; SIMONTACCHI, M.; PUNTARULO, S.; BARASSI, C.; LAMATTINA, L. Nitric oxide is involved in the *Azospirillum brasilense*-induced lateral root formation in tomato. **Planta**, Heidelberg, v. 221, p. 297-303, 2005.

CROFT, H.; CHEN, J. M.; LUO, X.; BARTLETT, P.; CHEN, B.; STAEBLER, R. M. Leaf chlorophyll content as a proxy for leaf photosynthetic capacity. **Global Change Biology**, Chichester, v. 23, n. 9, p. 3513-3524, 2017.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. v. 1. 480 p.

DOBBELAERE, S.; OKON, Y. The plant growth-promoting effect and plant responses. In: ELMERICH, C.; NEWTON, W. E. (ed.) **Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 145-170.

DUCA, D.; LORV, J.; PATTEN, C. L.; ROSE, D.; GLICK, B. R. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. **Anton Leeuw**, [s. l.], v. 106, p. 85-125, 2014.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Inoculante para fixação de nitrogênio para cana é lançado pela Basf e Embrapa**. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-30noticias/-/noticia/39688081/inoculante-para-fixacao-de-nitrogenio-para-cana-e-lancado-pela-basf-e-embrapa>. Acesso em: 20 de abril 2024.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, **List of bacterial type strains available for distribution at CRB-JD**. Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner, EMBRAPA Agrobiologia, Seropédica/RJ, 2014. 38 p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Accessing inoculation methods of maize and wheat with *Azospirillum brasilense*. **AMB Express**, Heidelberg, v. 6, 3, 2016.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Phytohormones and induction of plant-stress tolerance and defense genes by seed and foliar inoculation with *Azospirillum brasilense* cells and metabolites promote maize growth. **AMB Express**, Heidelberg, v. 7, 153, 2017.

FUKAMI, J.; OLLERO, F. J.; OSA, C.; VALDERRAMA-FERNÁNDEZ, R.; NOGUEIRA, M. A.; MEGÍAS, M.; HUNGRIA, M. Antioxidant activity and induction of mechanisms of resistance to stresses related to the inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Archives of Microbiology**, Heidelberg, v. 200, p. 1191-1203, 2018.

GARCIA, A. A. F.; SOUZA JÚNIOR, C. L. Comparação de índices não paramétricos para seleção de cultivares. **Bragantia**, Campinas, v. 58, n. 2, p. 253-267, 1999.

GARCÍA-FRAILE, P.; MENÉNDEZ, E.; RIVAS, R. Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. **AIMS Bioengineering**, Springfield, v. 2, p. 183-205, 2015.

HARVESTPLUS. **Iron-bean**, 2009. Disponível em: http://www.harvestplus.org/sites/default/files/HarvstPlus_Bean_Strategy.pdf. Acesso em: 20 abr. 2021.

- HEIDARI, M.; GOLPAYEGANI, A. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Riyadh, v. 11, n. 1, p. 57-61, 2012.
- HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, London, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.
- HUNGRIA, M.; BARBOSA, J. Z.; RONDINA, A. B. L.; NOGUEIRA, M. A. Improving maize sustainability with partial replacement of N fertilizers by inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Agronomy Journal**, Madison, v. 114, n. 5, p. 2969-2980, 2022.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 331, p. 413-425, 2010.
- KENNEDY, I. R.; CHOUDHURY, A. T. M. A.; KECSKÉS, M. L. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 36, n. 8, p. 1229-1244, 2004.
- LAZZARETTI, E.; BETTIOL, W. Tratamento de sementes de arroz, trigo, feijão e soja com um produto à base de células e de metabólitos de *Bacillus subtilis*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, p. 89-96, 1997.
- LEE, S.; KA, J. O.; SONG, H. G. Growth promotion of *Xanthium italicum* by application of rhizobacterial isolates of *Bacillus aryabhattai* in microcosm soil. **The Journal of Microbiology**, Hauppauge, v. 50, p. 45-49, 2012.
- LI, Y.; PAN, F.; YAO, H. Response of symbiotic and asymbiotic nitrogen-fixing microorganisms to nitrogen fertilizer application. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 19, p. 1948-1958, 2019.
- LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of Total Carotenoids and Chlorophylls a and B of Leaf Extracts in Different Solvents. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 11, p. 591-592, 1983.
- LIN, S. Y.; HAMEED, A.; SHEN, F. T.; LIU, Y. C.; HSU, Y. H.; SHAHINA, M.; LAI, W.-A.; YOUNG, C. C. Description of *Niveispirillum fermenti* gen. nov., sp. nov., isolated from a fermentor in Taiwan, transfer of *Azospirillum irakense* (1989) as *Niveispirillum irakense* comb. nov., and reclassification of *Azospirillum amazonense* (1983) as *Nitrospirillum amazonense* gen. nov. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 105, p. 1149-1162, 2014.
- LIU, H.; WANG, X.; QI, H.; WANG, Q.; CHEN, Y.; LI, Q.; XIE, Y. The infection and impact of *Azorhizobium caulinodans* ORS571 on wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 11, e0187947, 2017.
- LJUNG, K. Auxin metabolism and homeostasis during plant development. **Development**, Hull, v. 140, n. 5, p. 943-950, 2013.

MADHAIYAN, M.; POONGUZHALI, S.; KWON, S. W.; SONG, M. H.; SA, T. M. Molecular characterization of *Burkholderia* strains isolated from rice cultivars (*Oryza sativa* L.) for species identification and phylogenetic grouping. **Journal of microbiology and biotechnology**, Seoul, v. 18, n. 6, p. 1005-1010, 2008.

MAGALHÃES, F. M. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. **Anais-Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 55, p. 417-430, 1983.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, A. S. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997.

MARTINS, L. D.; TOMAZ, M. A.; SOUZA, A. F. D.; JESUS JUNIOR, W. C.; RODRIGUES, W. N. Influência da aplicação de Ciproconazol+ Tiametoxam no crescimento de mudas de *Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 34, n. 1, p. 220-228, 2011.

MCCULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. **Clinica chimica acta**, Amsterdam, v. 17, n. 2, p. 297-304, 1967.

MIRANDA, R. A. **Uma história de sucesso da civilização**. Porto Alegre: A Granja, 2018. v. 74, n. 829, p. 24-27.

MOTHES, K. The metabolism of Urea and ureides. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 39, p. 1785-1807, 2011.

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Cairo, v. 7, p. 40-51, 1978.

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

NAIK, P. R.; RAMAN, G.; NARAYANAN, K. B.; SAKTHIVEL, N. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. **BMC Microbiology**, London, v. 8, 230, 2008.

NASCIMENTO, F. X.; TAVARES, M. J.; FRANCK, J.; ALI, S.; GLICK, B. R.; ROSSI, M. J. ACC deaminase plays a major role in *Pseudomonas fluorescens* YsS6 ability to promote the nodulation of Alpha-and Betaproteobacteria rhizobial strains. **Archives of microbiology**, Heidelberg, v. 201, p. 817-822, 2019.

OHYAMA, T.; KUMAZAWA, K. Assimilation and transport of nitrogenous compounds originated from $^{15}\text{N}_2$ fixation and $^{15}\text{NO}_i$ absorption. **Soil Science and Plant Nutrition**, Singapore, v. 25, p. 9-19, 1979.

OROZCO-MOSQUEDA, M. C.; GLICK, B. R.; SANTOYO, G. ACC deaminase in plant growth-promoting bacteria (PGPB): An efficient mechanism to counter salt stress in crops. **Microbiological Research**, Muenchen, v. 235, 126439, 2020.

PAGE, W. J.; COLLINSON, S. K. Characterization of *Azomonas macrocytogenes* strains isolated from Alberta soils. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 33, n. 9, p. 830-833, 1987.

PARK, M.; KIM, C.; YANG, J.; LEE, H.; SHIN, W.; KIM, S.; SA, T. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. **Research in Microbiology**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 160, p. 127-133, 2005.

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.; YUN, B.-W. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 12, n. 3, e0173203, 2017.

PERIN, L. **Estudo da comunidade de bactérias diazotróficas do gênero *Burkholderia* em associação com cana-de-açúcar e descrição de *Burkholderia silvatlantica***. Orientador: Verônica Massena Reis. 2007. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

RAFI, M. M.; KRISHNAVENI, M. S.; CHARYULU, P. B. B. N. Phosphate-solubilizing microorganisms and their emerging role in sustainable agriculture. In: BUDDOLLA, V. (Ed.). **Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry**. Cambridge: Academic Press, 2019. v. 17, p. 223-233.

RAIJ, B.; CANTARELLA, H. Milho para grãos e silagem. In: RAIJ, B.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (ed.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), 1997. p. 43-73.

REINPRECHT, Y.; SCHRAM, L.; MARSOLAIS, F.; SMITH, T. H.; HILL, B.; PAULS, K. P. Effects of nitrogen application on nitrogen fixation in common bean production. **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 11, 1172, 2020.

REIS JUNIOR, F. B.; SILVA, M. F.; TEIXEIRA, K. R. S.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Identificação de isolados de *Nitrospirillum amazonense* associados a *Brachiaria* spp., em diferentes épocas e condições de cultivo e produção de fitormônio pela bactéria. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 1, p.103-113, 2004.

REIS, V. M.; OLIVEIRA, A. L. M.; BALDANI, V. L. D.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S. (ed.) **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: SBCS, 2006. p. 154-194.

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

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 552-555, 2004.

SANTOS H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAÚJO, J. C. F.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 356 p.

SANTOS, P. E.; BUSTILLOS-CRISTALES, R.; CABALLERO-MELLADO, J. *Burkholderia*, a genus rich in plant-associated nitrogen fixers with wide environmental and geographic distribution. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 2790-2798, 2001.

SCHWAB, S.; TERRA, L. A.; BALDANI, J. I. Genomic characterization of *Nitrospirillum amazonense* strain CBAmC, a nitrogen-fixing bacterium isolated from surface-sterilized sugarcane stems. **Molecular Genetics and Genomics**, Heidelberg, v. 293, n. 4, p. 997-1016, 2018.

TAKAGI, H.; ISHIGA, Y.; WATANABE, S.; KONISHI, T.; EGUSA, M.; AKIYOSHI, N.; MATSUURA, T.; MORI, I. C.; HIRAYAMA, T.; KAMINAKA, H.; SHIMADA, H.; SAKAMOTO, A. Allantoin, a stress-related purine metabolite, can activate jasmonate signaling in a MYC2-regulated and abscisic acid-dependent manner. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 8, p. 2519-2532, 2016.

TERRA, L. A.; SOARES, C. P.; MENESES, C. H. S. G.; SFEIR, M. Z. T.; SOUZA, E. M.; SILVEIRA, V.; VIDAL, M. S.; BALDANI, J. I.; SCHWAB, S. Transcriptome and proteome profiles of the diazotroph *Nitrospirillum amazonense* strain CBAmC in response to the sugarcane apoplast fluid. **Plant Soil**, Prague, v. 451, p. 145-168, 2020.

THOMAS, R.; SCHRADER, L. Ureide metabolism higher plants. **Phytochemistry**, Oxford, v. 20, p. 361-371, 1981.

THULER, D. S.; FLOH, E. I. S.; HANDRO, W.; BARBOSA, H. R. Plant growth regulators, amino acids released by *Azospirillum* sp. in chemically defined media. **Letters in Applied Microbiology**, Chichester, v. 37, n. 2, p. 174-178, 2003.

TIEN, T. M.; GASKINS, M. H.; HUBBELL, D. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 37, n. 5, p. 1016-1024, 1979.

TOYOTA, K. Bacillus-related spore formers: attractive agents for plant growth promotion. **Microbes and Environments**, Tokyo, v. 30, n. 3, p. 205-207, 2015.

UPADHYAY, S.K.; SINGH, J. S.; SAXENA, A. K.; SINGH, D. P. Impact of PGPR inoculation on growth and antioxidant status of wheat under saline conditions. **Plant Biology**, Chichester, v. 14, n. 4, p. 605-611, 2012.

VOGELS, G. D.; DRIFT, C. Differential analyses of glyoxylate derivatives. **Analytical Biochemistry**, Philadelphia v. 33, p. 143-157, 1970.

WERNER, A. K.; WITTE, C. P. The biochemistry of nitrogen mobilization: purine ring catabolism. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 16, n. 7, p. 381-387, 2011.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, [s. l.], v. 80, n. 948, p. 209-214, 1955.

ZHANG, L.; XIE, G. Diversity and distribution of *Burkholderia cepacia* complex in the rhizosphere of rice and maize. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 266, n. 2, p. 231-235, 2007.

ZRENNER, R.; STITT, M.; SONNEWALD, U.; BOLDT, R. Pyrimidine and purine biosynthesis and degradation in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 805-836, 2006.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S2.1 Método de multiplicação de cada microrganismo utilizado

Microrganismo	Código	Origem	Meio de cultura	Condições de crescimento
<i>Azospirillum brasilense</i> (Ab-V5)	2083	EMBRAPA	DYGS	3 dias, 30°C
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	BR 10692	EMBRAPA Agrobiologia/Dinamarca	TSA	3 dias, 30°C
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	BR 5410	EMBRAPA Agrobiologia/Senegal	79	3 dias, 30°C
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	BR 10657	EMBRAPA Agrobiologia	TSA	3 dias, 30°C
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ATCC 23350	CCT/FAT	NA	3 dias, 30°C
<i>Bacillus aryabhattai</i> (UNICAMP)	1120	CEBMAI	NA	2 dias, 28°C
<i>Bacillus aryabhattai</i> (EMBRAPA)	CMAA 1363	EMBRAPA	Produto comercial AURAS	
<i>Bacillus pulmilus</i>	-	LSM	NA	1 dia, 28°C
<i>Bacillus subtilis</i>	-	LSM	NA	1 dia, 28°C
<i>Beijerinckia doebereineriae</i>	BR 10344	EMBRAPA Agrobiologia	DYGS	3 dias, 30°C
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	BR 12311	EMBRAPA Agrobiologia/Vietnã	JMV	3 dias, 30°C
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	BR 11281	EMBRAPA/Coruripe-AL	LGI-P	3 dias, 30°C
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	BR 11175	EMBRAPA Agrobiologia	JNFb	3 dias; 30 °C
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	BR 11142	EMBRAPA Agrobiologia	LGI	3 dias, 30°C
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	CCT/FAT	NA	3 dias, 28 °C
<i>Trichoderma harzianum</i>	-	FCAV	PDB	7 dias, 30 °C

TSA: Ágar Trípico de Soja. NA: Ágar Nutriente. PDB: Caldo de Batata Dextrose. 79, DYGS, JMV, LGI-P, JNFb, LGI: meios de cultura descritos em Döbereiner, J., Andrade, V.D.O., Baldani, V.L.D., 1999. Protocolos para preparo de meios de cultura da Embrapa Agrobiologia. EMBRAPA Agrobiologia, Rio de Janeiro.

Tabela S2.2 Cálculo das médias de cada grupo de tratamento e seu índice de superioridade em relação à média geral do crescimento vegetativo e das variáveis nutricionais do milho

Massa seca da parte aérea		Massa seca de raízes		Volume de raízes		Acúmulo de N		Acúmulo de P	
Médias de cada grupo de tratamento									
156,6945	a	98,2667	a	666,2127	a	1,6105	a	0,3508	a
136,4667	b	75,6593	b	589,9983	b	1,3031	b	0,2788	b
142,4200	Média ge- ral	86,2980	Média ge- ral	639,3137	Média ge- ral	1,4297	Média ge- ral	0,3127	Média ge- ral
Índice de Superioridade – Milho									
1,1002	a	1,1387	a	1,0421	a	1,1265	a	1,1220	a
0,9582	b	0,8767	b	0,9229	b	0,9114	b	0,8915	b

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S2.3 Cálculo das médias de cada grupo de tratamento e seu índice de superioridade em relação à média geral dos compostos nitrogenados do milho

Nitrato		Amônia		Ácido alantóico		Aminoácidos	
Médias de cada grupo de tratamento							
1459,1707	a	5,7133	a	0,1181	a	0,7110	a
1218,0950	b	5,2800	b	0,0923	b	0,5900	b
996,4625	c	5,0255	c	-	-	-	-
699,7533	d	4,5867	d	-	-	-	-
-	-	3,9583	e	-	-	-	-
-	-	3,5678	f	-	-	-	-
-	-	3,0950	g	-	-	-	-
1053,9484	Média geral	4,1941	Média geral	0,1029	Média geral	0,6398	Média geral
Índice de Superioridade – Milho							
1,3845	a	1,3622	a	1,1477	a	1,1112	a
1,1557	b	1,2589	b	0,8971	b	0,9222	b
0,9455	c	1,1982	c	-	-	-	-
0,6639	d	1,0936	d	-	-	-	-
-	-	0,9438	e	-	-	-	-
-	-	0,8507	f	-	-	-	-
-	-	0,7379	g	-	-	-	-

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S2.4 Cálculo das médias de cada grupo de tratamento e seu índice de superioridade em relação à média geral da clorofila total das folhas do milho

Clorofila total	
Médias de cada grupo de tratamento	
129,4100	a
124,1133	b
120,2367	c
117,4278	d
113,3000	e
111,8700	f
108,8600	g
107,2300	h
104,4467	i
102,4617	j
94,2884	k
111,9378	Média geral
Índice de Superioridade – Milho	
1,1561	a
1,1088	b
1,0741	c
1,0490	d
1,0122	e
0,9994	f
0,9725	g
0,9579	h
0,9331	i
0,9153	j
0,8423	k

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S2.5 Cálculo das médias de cada grupo de tratamento e seu índice de superioridade em relação à média geral do crescimento vegetativo do feijão

Massa seca da parte aérea		Massa seca de raízes	
Médias de cada grupo de tratamento			
12,1273	a	17,4672	a
10,8816	b	12,1733	b
11,395	Média geral	14,976	Média geral
Índice de Superioridade – Feijão			
1,0643	a	1,1664	a
0,9550	b	0,8129	b

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S2.6 Cálculo das médias de cada grupo de tratamento e seu índice de superioridade em relação à média geral dos compostos nitrogenados do feijão

Nitrato		Amônia		Ureídeos		Aminoácidos	
Médias de cada grupo de tratamento							
336,3200	a	7,7120	a	3,0785	a	0,0698	a
216,8636	b	6,7806	b	2,5433	b	0,0544	b
-	-	5,9370	c	2,1225	c	-	-
-	-	5,4080	d	1,7934	d	-	-
-	-	4,7607	e	1,4633	e	-	-
-	-	4,0640	f	-	-	-	-
259,025	Média geral	5,505	Média geral	2,294	Média geral	0,059	Média geral
Índice de Superioridade – Feijão							
1,2984	a	1,4009	a	1,3420	a	1,1857	a
0,8372	b	1,2317	b	1,1087	b	0,9236	b
-	-	1,0784	c	0,9253	c	-	-
-	-	0,9823	d	0,7818	d	-	-
-	-	0,8648	e	0,6379	e	-	-
-	-	0,7382	f	-	-	-	-

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S2.7 Cálculo das médias de cada grupo de tratamento e seu índice de superioridade em relação à média geral da clorofila total das folhas do feijão

Clorofila total	
Médias de cada grupo de tratamento	
48,5049	a
39,1332	b
25,6926	c
14,3415	d
5,7483	e
26,6132	Média geral
Índice de Superioridade – Feijão	
1,8226	a
1,4704	b
0,9654	c
0,5389	d
0,2160	e

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S2.8 Índices de superioridade de cada variável significativa e resultado final do Índice Parcial para o milho

Inoculação	VolR	MSPA	MSR	AcumN	AcumP	Nitrato	Amônia	AcdAlan	AA	ClorT	IPM
Testemunha	1,0421	0,9582	0,8767	1,1265	1,122	0,6639	0,9438	1,1477	0,9222	0,9331	14,86
<i>Azospirillum brasilense</i>	0,9229	0,9582	0,8767	0,9114	0,8915	1,3845	1,3622	1,1477	0,9222	1,0741	15,01
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	1,0421	1,1002	0,8767	1,1265	1,122	0,6639	1,2589	0,8971	1,1112	0,9579	15,42
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	0,9229	1,1002	1,1387	1,1265	1,122	0,6639	0,7379	1,1477	0,9222	0,9153	15,21
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	1,0421	0,9582	0,8767	1,1265	1,122	0,6639	0,7379	1,1477	1,1112	0,9725	14,88
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,9229	0,9582	0,8767	0,9114	0,8915	0,9455	0,9438	1,1477	0,9222	1,049	14,13
<i>Bacillus aryabhattai</i> (UNICAMP)	1,0421	1,1002	1,1387	0,9114	1,122	0,9455	0,9438	0,8971	1,1112	1,1561	15,68
<i>Bacillus aryabhattai</i> (EMBRAPA)	1,0421	0,9582	0,8767	0,9114	0,8915	0,9455	0,9438	0,8971	0,9222	0,8423	13,91
<i>Bacillus pulmilus</i>	1,0421	0,9582	1,1387	0,9114	0,8915	0,6639	0,8507	0,8971	1,1112	0,9994	14,41
<i>Bacillus subtilis</i>	1,0421	0,9582	1,1387	0,9114	1,122	1,3845	0,9438	0,8971	1,1112	0,9579	15,64
<i>Beijerinckia doebereineriae</i>	1,0421	1,1002	0,8767	1,1265	1,122	0,6639	1,1982	0,8971	1,1112	0,9153	15,32
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	1,0421	1,1002	1,1387	1,1265	1,122	0,9455	0,8507	0,8971	0,9222	1,049	15,72
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	0,9229	0,9582	1,1387	0,9114	0,8915	1,3845	0,8507	0,8971	0,9222	1,049	14,75
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	0,9229	0,9582	0,8767	1,1265	0,8915	1,1557	1,0936	0,8971	0,9222	0,8423	14,46
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	1,0421	0,9582	1,1387	0,9114	0,8915	1,1557	1,1982	0,8971	1,1112	1,1561	15,4
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,9229	0,9582	0,8767	0,9114	0,8915	1,3845	1,1982	1,1477	0,9222	1,0122	14,79
<i>Trichoderma harzianum</i>	1,0421	0,9582	1,1387	0,9114	0,8915	1,3845	0,9438	1,1477	0,9222	1,1088	15,39

Nota: VolR: volume de raiz; MSPA: massa seca da parte aérea; MSR: massa seca de raiz; AcumN: acúmulo de nitrogênio na parte aérea; AcumP: acúmulo de fósforo na parte aérea; Nitrato, Amônia, AcdAlan: concentração de nitrato, amônia e ácido alantóico na folha, respectivamente; AA: concentração de aminoácidos na folha; ClorT: clorofilas totais. IPM: Índice Parcial do milho.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S2.9 Índices de superioridade de cada variável significativa e resultado final do Índice Parcial para o feijão

Inoculação	MSPA	MSR	Nitrato	Amônia	Ure	AA	ClorT	IPF
Testemunha	0,955	0,8129	1,2984	1,4009	1,1087	0,9236	0,216	8,48
<i>Azospirillum brasilense</i>	0,955	0,8129	1,2984	1,0784	1,1087	1,1857	1,8226	10,03
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	0,955	1,1664	0,8372	0,9823	1,342	0,9236	1,4704	9,8
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	1,0643	0,8129	0,8372	0,8648	1,1087	0,9236	0,216	7,7
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	1,0643	1,1664	0,8372	0,7382	1,1087	1,1857	1,4704	9,8
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,955	1,1664	0,8372	0,7382	1,1087	0,9236	1,8226	9,67
<i>Bacillus aryabhattai</i> (UNICAMP)	1,0643	1,1664	0,8372	1,0784	1,1087	0,9236	0,9654	9,37
<i>Bacillus aryabhattai</i> (EMBRAPA)	0,955	0,8129	0,8372	0,7382	0,6379	0,9236	0,9654	7,64
<i>Bacillus pulmilus</i>	0,955	1,1664	0,8372	1,0784	0,9253	0,9236	0,9654	8,97
<i>Bacillus subtilis</i>	0,955	1,1664	0,8372	0,7382	0,9253	0,9236	0,5389	8,21
<i>Beijerinckia doebereineriae</i>	1,0643	0,8129	1,2984	0,9823	1,1087	1,1857	0,9654	9,29
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	0,955	0,8129	0,8372	1,2317	0,9253	1,1857	1,8226	9,54
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	1,0643	0,8129	1,2984	1,0784	0,9253	0,9236	0,216	8,2
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	1,0643	0,8129	1,2984	1,0784	0,9253	0,9236	0,5389	8,52
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	1,0643	1,1664	0,8372	1,0784	0,7818	0,9236	1,8226	9,9
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,955	1,1664	0,8372	0,8648	0,9253	0,9236	0,9654	8,76
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,955	1,1664	1,2984	1,2317	0,9253	1,1857	0,216	9,1

Nota: MSPA: massa seca da parte aérea; MSR: massa seca de raiz; Nitrato, Amônia, Ure: concentração de nitrato, amônia e ureídeos nas folhas, respectivamente; AA: concentração de aminoácidos na folha; ClorT: clorofilas totais. IPF: Índice Parcial do feijão.

Fonte: Dados do próprio autor.

APÊNDICE A – IMAGENS DO EXPERIMENTO

Figura A1.1 Aspecto geral das plantas de milho aos 20 dias após a emergência e após o desbaste. Ilha Solteira/SP, julho/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A1.2 Aspecto geral das plantas de feijão aos 15 dias após a emergência e após o desbaste. Ilha Solteira/SP, julho/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A1.3 Adubação nitrogenada de cobertura das plantas de milho no estágio V₄. Ilha Solteira/SP, julho/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A1.4 Adubação nitrogenada de cobertura das plantas de feijão no estágio V₄₋₄. Ilha Solteira/SP, julho/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A1.5 Aspecto geral das plantas de milho à esquerda e feijão à direita aos 30 e 27 dias após a emergência, respectivamente. Ilha Solteira/SP, agosto/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A1.6 Aspecto geral das plantas de milho aos 48 dias após a emergência. Ilha Solteira/SP, agosto/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A1.7 Florescimento pleno das plantas de feijão aos 54 dias após a emergência.
Ilha Solteira/SP, setembro/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A1.8 Florescimento pleno das plantas de feijão aos 54 dias após a emergência.
Ilha Solteira/SP, setembro/2021



Fonte: O próprio autor.

3 EFEITOS DA COINOCULAÇÃO DE BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E *Rhizoglosum clarum* SOBRE O CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E MICROBIOMA DA RAIZ DE MILHO PRIMEIRA SAFRA

RESUMO

A inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) é uma ferramenta promissora para aumentar a produtividade e a sustentabilidade da agricultura. No Brasil, o uso de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho é amplamente difundido, mas outras BPCP disponíveis em coleções brasileiras também apresentam potencial que precisa ser estudado. Além disso, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA), como *Rhizoglosum clarum*, podem melhorar a absorção de água e nutrientes pelas plantas, mas os efeitos de sua inoculação, isolada ou em coinoculação com BPCP, ainda carecem de investigações detalhadas. Este estudo comparou diferentes BPCP e avaliou sua combinação com o FMA *R. clarum* na cultura do milho no Cerrado brasileiro. O experimento foi conduzido em Selvíria/MS, em delineamento de blocos casualizados, esquema fatorial 8×2 , com parcelas subdivididas no tempo (dois anos de cultivo: 2021/22 e 2022/23) e quatro repetições. O primeiro fator incluiu as inoculações das BPCP (*Azospirillum brasilense*, *Azomonas macrocytogenes*, *Azotobacter beijerinckii*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus aryabhattai*, *Burkholderia vietnamiensis* e *Nitrospirillum amazonense*), além de uma testemunha sem inoculação. O segundo fator avaliou a presença ou ausência do FMA *R. clarum* inoculado. Os resultados mostraram que a inoculação de FMA aumentou o teor foliar de cobre no milho. As bactérias *A. macrocytogenes* e *N. amazonense* aumentaram o teor e a exportação de zinco (Zn) pelos grãos. Ao inocular *B. aryabhattai*, houve incremento do teor de Zn nos grãos e sua coinoculação com FMA promoveu maior diâmetro das espigas. A inoculação de *Bur. vietnamiensis* favoreceu a colonização micorrízica nas raízes e aumentou o teor de Zn nos grãos. A análise da diversidade microbiana das raízes revelou que as inoculações com *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense*, isoladas ou coinoculadas com *R. clarum*, modulam a comunidade de bactérias, fungos e FMA recrutados pelas raízes. Conclui-se que as coinoculações de BPCP com o FMA *R. clarum* podem promover o crescimento e a nutrição do milho, com destaque para *Az. brasilense*, *B. amyloliquefaciens* e *B. aryabhattai*. No entanto, novos estudos são necessários para validar a estabilidade dessas inoculações e interações em diferentes condições de campo e ao longo do tempo.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; *Azospirillum brasilense*; *Nitrospirillum amazonense*; cerrado brasileiro; nutrição de plantas; diversidade microbiana das raízes.

3.1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é essencial para a humanidade (Erenstein *et al.*, 2022) e, segundo dados da FAOSTAT (2022), a produção total da cultura em 2022 foi de 1,16 bilhões de toneladas, em uma área de 203,5 milhões de ha, com produtividade média de 5718,3 kg ha⁻¹. Porém, um aumento entre 70-100% nessa produtividade deve ocorrer até 2050 para satisfazer a crescente demanda alimentar mundial (Wart *et al.*, 2013, Tian *et al.*, 2021). Além do melhoramento genético, as técnicas de manejo têm papel fundamental nesse processo, destacando-se o uso de microrganismos promotores de crescimento de plantas (Patani *et al.*, 2024; Martin *et al.*, 2023).

As bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) incluem diversas espécies que realizam fixação biológica do nitrogênio (FBN), solubilização e mineralização de fosfato, produção de ACC-deaminase, produção de ácido indol-acético (AIA), citocininas, sideróforos, antibióticos e outros compostos benéficos para as plantas (Jaoudé *et al.*, 2024; Zaheer *et al.*, 2022; Çakmakçı *et al.*, 2020; Olanrewaju *et al.*, 2017). No milho, a inoculação com a bactéria fixadora de N associativa, *Azospirillum brasilense*, pode reduzir em 25% a adubação nitrogenada de cobertura da cultura (Hungria *et al.*, 2022), sendo esta a BPCP mais estudada e utilizada na agricultura brasileira (Cassán *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2021a).

Outras bactérias benéficas também se destacam, como *Bacillus subtilis*, reduzindo o ataque de nematoides (Costa *et al.*, 2023), *B. aryabhattai* aumentando a tolerância à estresse hídrico e salino (Sousa *et al.*, 2023), *B. megaterium* solubilizando fosfato (Paiva *et al.*, 2024). Somente na EMBRAPA – Agrobiologia, existem mais de 200 espécies de BPCP descritas (EMBRAPA, 2014), contrastando com as 10 espécies disponíveis para inoculação na cultura do milho no Brasil segundo o aplicativo Bioinsumos (Brasil, 2020).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são outro grupo de microrganismos benéficos que realizam simbiose com a maioria das espécies agrícolas, inclusive o milho, colonizando suas raízes e estendendo suas hifas para o solo, permitindo maior absorção de água e nutrientes, especialmente o fósforo (P) (Smith; Read, 2008; Thirkell *et al.*, 2017) e levando à maior crescimento e produtividade da cultura do milho (Stoffel *et al.*, 2020). Porém, por ser um simbionte obrigatório, a produção de inoculantes de FMA apresenta desafios, já que requer o cultivo de plantas hospedeiras para sua propagação. Isso resulta em maior demanda por espaço, além de tornar o processo mais trabalhoso e menos automatizado em comparação com a produção de outros microrganismos. Isto

frequentemente torna o uso destes inoculantes mais caros, limitando as inoculações de FMA em condições de campo (Ijdo *et al.*, 2011; Thomsen *et al.*, 2021; Igiehon; Babalola, 2017).

Por outro lado, existe uma grande variabilidade na resposta destes fungos nos seus hospedeiros, que depende do genótipo da planta e do próprio fungo, assim como das condições edafoclimáticas, inclusive as comunidades microbianas das raízes, rizosfera e o solo (Voříšková *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2018; Hoeksema *et al.*, 2010; Lutz *et al.*, 2023). Essa limitação impacta também as pesquisas com inoculação de FMA em condições de campo. Por exemplo, na meta-análise realizada por Delavaux *et al.* (2017), os experimentos de campo representaram apenas 4,3% dos trabalhos analisados.

Corroborando este fato, a busca avançada com o termo “inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi *Zea mays*” na Web of Science resultou em 382 trabalhos, enquanto que a busca com os termos “inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi *Zea mays* field” resultou em apenas 112 trabalhos, ou seja, 29,3% do total (Tabela Suplementar S3.1). Mais escassos ainda são os trabalhos estudando a combinação de FMA com BPCP em campo, com 18 trabalhos encontrados (4,5% do total) após a busca com os termos “inoculation of arbuscular mycorrhizal fungus and bacteria *Zea mays* field” na Web of Science.

Apesar disso, os estudos envolvendo FMA e BPCP são essenciais, já que essa interação é complexa, variando entre antagônica, neutra ou sinérgica, a depender da bactéria, FMA, genótipo da planta hospedeira e condições ambientais (Li *et al.*, 2007; Emmanuel e Babalola, 2020). Por exemplo, a interação entre *Az. brasilense* e *Glomus intraradices* foi sinérgica, com aumento na absorção de N e P pela cultura do trigo, enquanto que a combinação do FMA com *Streptomyces* sp. S57 reduziu a absorção desses nutrientes (Ardakani *et al.*, 2011). Assim, ainda que combinações sinérgicas de BPCP e FMA podem ser ferramentas poderosas nos moldes da agricultura sustentável, mais estudos de campo precisam ser feitos para maior clareza sobre essas relações (Berrios; Rentsch, 2022).

Atualmente, as ferramentas moleculares permitem entender como as práticas de manejo influenciam o microbioma das plantas e dos solos e que modificar os microrganismos recrutados pelas plantas pode alterar seu crescimento, suscetibilidade às doenças, tolerância à estresses abióticos, culminando em alterações em sua produtividade (Sasse *et al.*, 2018; Trivedi *et al.*, 2020; Hassani *et al.*, 2023). Assim, a prática de inoculação induz alterações no microbioma das raízes e rizosfera que indiretamente também podem beneficiar seu crescimento e produtividade (Moretti *et al.*, 2024; Rigobelo *et al.*, 2024).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi de preencher as lacunas sobre interações entre BPCP e FMA na cultura do milho em condições de campo, com os objetivos de: 1) comparar BPCP de coleções brasileiras para a cultura do milho irrigado no cerrado; 2) verificar se existem combinações sinérgicas entre BPCP e *R. clarum* para a cultura do milho; 3) entender como as diferentes combinações de inoculações modulam o microbioma das raízes do milho e como isso influencia o desenvolvimento da cultura.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Área experimental

Este estudo foi conduzido em duas safras de verão consecutivas, nos anos de 2021/22 e 2022/23, na Fazenda de Pesquisa, Ensino e Extensão da UNESP, localizada no município de Selvíria/MS, Brasil. A área experimental, situada no bioma cerrado, possui um histórico de cultivos agrícolas de grãos há mais de 30 anos e estava em fase inicial de implantação do sistema de plantio direto no momento da instalação do experimento. Conforme imagem de satélite obtida pelo Google Earth (Figura 3.1), a área experimental está localizada nas coordenadas geográficas aproximadas de 20° 30' 37,15" Sul e 51° 24' 10,27" Oeste, com uma altitude de 357 m acima do nível do mar.

Figura 3.1 Imagem de satélite da área experimental e localização geográfica



Fonte: Google Earth.

O solo do local é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico argiloso, de acordo com Santos *et al.* (2018), correspondendo à um Typic Haplustox (Oxisol) pela classificação da USDA Soil Survey Staff (2017). A fertilidade do solo da camada de 0,00-0,20 m da área foi caracterizada após amostragem e análise de acordo com Raij *et*

al., (2001), resultando nos dados da Tabela 3.1. O solo foi corrigido com aplicação de 2 t ha⁻¹ de calcário dolomítico quatro meses antes da implantação do experimento.

Tabela 3.1 Valores de fertilidade do solo anteriormente à instalação do experimento

P (resina) -- mg dm ⁻³ --	S-SO₄	pH CaCl ₂	K	Ca	Mg mmol _c dm ⁻³	H+Al
20,00	9	5,5	1,3	25	19	72
MO g dm ⁻³	Cu	Fe	Mn mg dm ⁻³	Zn	B	Saturação de bases %
21	2,6	37	24,2	0,7	0,28	39

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo, UNESP/Ilha Solteira.

O clima da região é classificado como Aw (classificação de Köppen), apresentando precipitação e temperatura médias anuais de 1322 mm e 23 °C, respectivamente (Alvares *et al.*, 2013). Os dados de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica foram coletados na estação meteorológica da UNESP em Ilha Solteira/SP, Brasil, a 22 km da área experimental, e estão apresentados na Figura Suplementar S3.1.

3.2.2 Delineamento experimental e material biológico

O experimento foi realizado utilizando um delineamento em blocos casualizados e esquema fatorial 8 x 2, com 4 repetições. As parcelas foram subdivididas no tempo, pois o experimento foi inicialmente implantado em 2021/22 e reimplantado em 2022/23 nas mesmas parcelas, conforme descrito em Pimentel-Gomes (2009) para realização da análise conjunta de dados em tais casos. Após o primeiro cultivo de milho, foi realizado cultivo de feijão de inverno na área (2022), utilizando-se os mesmos tratamentos nas mesmas parcelas, e voltou a repetir-se este delineamento no segundo cultivo de milho.

O experimento utilizou o híbrido de milho AG 7098® em ambos os ciclos (2021/22 e 2022/23), um genótipo recomendado para o cultivo de verão da região, tolerante ao complexo de enfezamento, com boa produção de matéria seca e peso de 1000 grãos de 352 g segundo a Agrocere (2024).

As parcelas foram constituídas por seis linhas de 6 metros de comprimento, com espaçamento entre linhas de 0,85 m e distância de 0,50 m entre parcelas. As quatro linhas centrais, excluindo 1 m de cada extremidade, foram consideradas como área útil das parcelas.

O primeiro fator experimental consistiu nas inoculações das seguintes BPCP: *Azospirillum brasilense* (Ab-V5, cepa 2083), *Azomonas macrocytogenes* (BR 10692),

Azotobacter beijerinckii (BR 10657), *Bacillus amyloliquefaciens* (ATCC 23350), *Bacillus aryabhattai* (CBMAI 1120), *Burkholderia vietnamiensis* (BR 12311) e *Nitrospillum amazonense* (BR 11142), além de um tratamento testemunha não inoculada com BPCP. Essas BPCP foram escolhidas de acordo com os resultados de classificação do Capítulo 1. Conforme já informado, as cepas foram disponibilizadas pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner, Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria e o Laboratório de Microbiologia do Solo da UNESP – Campus de Jaboticabal.

A inoculação das bactérias foi realizada via semente e via foliar nos estádios V₅ e V₇, com dose de 500 mL ha⁻¹ nos três casos. Os inoculantes líquidos bacterianos foram produzidos no Laboratório de Microbiologia do Solo da UNESP – Campus de Jaboticabal, com concentração mínima de 1 x 10⁷ unidades formadoras de colônia (UFC) mL⁻¹, e as condições de produção dos inoculantes foram as mesmas citadas para estas bactérias no Capítulo 1.

O segundo fator experimental foi a presença e ausência de inoculação com o FMA *Rhizoglyphus clarum* (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) Sieverd., G.A.Silva & Oehl (linha-gem A5), produzido pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner e contendo 15 esporos por grama. As sementes foram inoculadas com 0,50 kg ha⁻¹ do inoculante micorrízico, totalizando 7500 esporos por ha. Para melhor aderência do inoculante sólido de FMA, foi utilizada solução adesiva de goma arábica + água (40 + 60%) em todos os tratamentos na dose de 300 mL ha⁻¹. As sementes não inoculadas receberam apenas o recobrimento com a solução adesiva.

As inoculações se repetiram também para a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na safra de inverno de 2022 e no segundo ano para o milho (2023).

3.2.3 Condução do experimento

O primeiro ano do experimento foi iniciado em 19/12/2021 com a adubação mecânica e demarcação dos sulcos e parcelas na área. Com base na análise de solo, na expectativa de produtividade (8 t ha⁻¹) e na recomendação de Raij e Cantarella (1997), foram aplicados 250 kg ha⁻¹ do fertilizante NPK de formulação 08-28-16. No dia seguinte, 20/12/2021, foi realizada a semeadura das parcelas com auxílio de semeadoras manuais.

As sementes de milho vieram com tratamento químico industrial com metalaxil + tiabendazol + fludioxonil (2,0 + 15,0 + 2,5 g para 100 kg sementes); deltametrina (0,2 g para 100 kg sementes) e pirimifós metílico (0,8 g para 100 kg sementes).

Após a inoculação com as BPCP e FMA correspondentes, as sementes foram secas em local sombreado e arejado. A semeadura foi realizada com a deposição de 5 sementes por metro nos sulcos previamente delimitados e adubados, objetivando-se população de 57000 plantas ha⁻¹ e considerando-se 95% de germinação. Cada bloco do experimento foi semeado por uma única pessoa, garantindo a homogeneidade da semeadura dentro do bloco. A primeira irrigação na área ocorreu em 28/12/2021 por meio de sistema fixo de irrigação por aspersão com vazão de 15 mm hora⁻¹. Durante a condução do experimento, a demanda hídrica da cultura foi atendida via irrigação quando necessário.

As plantas de milho emergiram no dia 30/12/2021. A primeira inoculação foliar dos inoculantes bacterianos foi realizada em 10/01/2022, no estágio fenológico V₅, na dose de 500 mL ha⁻¹, com pulverizador costal elétrico de pressão constante e volume de calda de 250 L ha⁻¹. A segunda inoculação foliar foi realizada em 19/01/2022, no estágio fenológico V₇, seguindo os mesmos parâmetros da inoculação anterior.

Nos dias 13/01/2022 e 27/01/2022, foram realizadas as adubações nitrogenadas de cobertura na cultura do milho. A primeira parcela, aos 14 dias após a emergência (DAE), foi feita com aplicação de 50 kg ha⁻¹ de nitrogênio (N) e 57 kg ha⁻¹ de enxofre (S), utilizando sulfato de amônio (21% de N e 24% S) como fonte. Na segunda parcela da adubação nitrogenada, aos 28 DAE, foram fornecidos mais 60 kg ha⁻¹ de N tendo a ureia (45% N) como fonte. A adubação nitrogenada foi realizada conforme a recomendação de Raij e Cantarella (1997).

No dia 15/02/2022, aos 47 DAE, ocorreu o florescimento da cultura e em 14/04/2022 (105 DAE), após a maturidade dos grãos, foi realizada a colheita dos mesmos.

Após a colheita dos grãos, o manejo da cobertura vegetal e controle de plantas daninhas foram realizados para o cultivo de feijão de inverno, entre os meses de maio e agosto de 2022. O cultivo de feijão foi realizado repetindo-se os tratamentos de BPCP e FMA nos mesmos locais das parcelas de milho. Após a colheita do feijão (agosto 2022), realizou-se a semeadura de milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) em área total para formação de cobertura vegetal.

O procedimento de cultivar o milho em 2021/22, seguido pelo feijão de inverno em 2022, e retornar ao milho em 2022/23, repetindo os mesmos tratamentos em cada

parcela ao longo dos cultivos agrícolas na área foi realizado para observar algum efeito cumulativo das inoculações ao longo dos cultivos sucessivos.

Após o manejo do milheto, foi realizada a semeadura do segundo ano de milho, da mesma forma que no primeiro ano. Em 16/11/2022, ocorreram a adubação mecanizada da área e a demarcação de sulcos e parcelas com a mesma dose de fertilizante do ano anterior (250 kg ha⁻¹ de 08-28-16). No dia seguinte, 17/11/2022, as sementes de milho, novamente tratadas industrialmente com metalaxil + tiabendazol + fludioxonil (2,0 + 15,0 + 2,5 g para 100 kg sementes); deltametrina (0,2 g para 100 kg sementes) e pirimifós metílico (0,8 g para 100 kg sementes), foram inoculadas e semeadas seguindo os mesmos procedimentos do ano anterior.

A primeira irrigação por sistema de aspersão ocorreu no dia 18/11/2022 e o manejo da irrigação foi conduzido como no ano anterior. As plantas de milho emergiram de forma homogênea em 23/11/2022. As inoculações foliares dos tratamentos de BPCP ocorreram em 01/12/2022 e 14/12/2022, nos estádios fenológicos V₅ e V₇, com o mesmo equipamento, volume de calda e pressão do ano anterior.

Em 16/12/2022, aos 23 DAE, foi aplicada uma dose de 100 kg ha⁻¹ de N tendo como fonte a ureia, sendo esta a única adubação nitrogenada da cultura neste ciclo. A cultura floresceu aos 53 DAE, em 15/01/2023 e a colheita dos grãos ocorreu aos 125 DAE, em 28/03/2023.

Uma representação cronológica da instalação e condução do experimento que foi descrita pode ser observada no Quadro 1.

Quadro 3.1 Resumo cronológico do experimento, com datas de semeadura e colheita de cada cultura

20/12/21	14/04/22	04/05/22	05/08/22	01/09/22	01/10/22	17/11/22	28/03/23	10/05/23	11/08/23
Semeadura do Milho	Colheita do Milho	Semeadura do Feijão	Colheita do Feijão	Cultura de Cobertura: Milheto		Semeadura do Milho	Colheita do Milho	Semeadura do Feijão	Colheita do Feijão

Fonte: Dados do próprio autor.

O manejo fitossanitário foi realizado para controle de lagartas desfolhadoras como *Helicoverpa* sp. e *Spodoptera frugiperda*, percevejos, especialmente *Dichelops* sp., e cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*). O controle de plantas daninhas foi realizado com o herbicida glifosato. Estas operações foram realizadas conforme a necessidade de manejo de cada ciclo, utilizando defensivos químicos registrados para a cultura do milho.

3.2.4 Avaliações

Por ocasião do florescimento da cultura, o índice de clorofila foliar (ICF) foi determinado com o equipamento ClorofiLog[®]. Foram feitas leituras de 20 folhas situadas abaixo da espiga principal da área útil de cada parcela. Os terços médios, incluindo nervura, dessas 20 folhas foram coletados e secos em estufa de circulação de ar à 65 °C até atingirem massa constante. Em seguida, foram moídos em moinho tipo Wiley para determinação dos teores de macro e micronutrientes foliares (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, ferro - Fe, cobre - Cu, manganês - Mn e zinco - Zn), de acordo com metodologia de Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Ainda no florescimento da cultura, com uso de régua graduada e paquímetro digital, foram mensuradas, em dez plantas, a altura de plantas, em metros, definida como a distância entre a superfície do solo e a ponta da panícula da inflorescência masculina da planta, altura de inserção da espiga, em metros, e diâmetro basal de colmo, em milímetros, medindo-se acima do primeiro nó da planta. Foram coletadas 6 plantas consecutivas de uma das linhas centrais das parcelas, que foram secas e pesadas para determinação da massa de matéria seca por planta de milho. Além disso, raízes finas da camada de 0-0,20 m das plantas de milho também foram coletadas para determinação da colonização micorrízica das raízes de acordo com metodologia de Novais *et al.* (2017).

Após a maturidade dos grãos, dez espigas consecutivas de uma linha da área útil das parcelas foram coletadas e despalhadas. Em seguida, foram feitas contagens do número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira, comprimento de espiga (em centímetros) e diâmetro de espiga (em centímetros). Além disso, foram contadas as plantas e colhidas manualmente as espigas contidas em duas linhas de três metros da área útil das parcelas. Com o número de plantas, calculou-se a população de plantas por hectare. As espigas foram trilhadas e determinou-se a massa e o teor de umidade dos grãos para obtenção da produtividade média (kg ha^{-1} a 13% de umidade – base úmida). Em seguida, foi realizada a contagem e pesagem de 100 grãos para determinação da massa de 100 grãos (g, à 13% de umidade – base úmida).

Após isso, retirou-se uma amostra de grãos colhidos de cada parcela que foram secas e moídas em moinho tipo Willey. Os teores de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn) nos grãos foram determinados seguindo a metodologia de Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). A exportação de nutrientes foi calculada multiplicando os teores

nutricionais pela produtividade de cada parcela e convertendo os valores para kg ha^{-1} e g ha^{-1} para macro e micronutrientes, respectivamente.

3.2.5 Análise estatística dos dados de crescimento, produtividade e nutrição

Os dados referentes ao desenvolvimento, nutrição e produtividade da cultura do milho foram analisados de forma conjunta considerando-se a subdivisão no tempo como os dois anos do experimento. Assim, os dados foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e quando houve significância para o fator BPCP ($p < 0,05$), foi realizado o teste de comparação de médias Scott-Knott (5%), enquanto para o fator FMA, o teste F da ANAVA foi conclusivo por serem apenas dois tratamentos. Não foi realizada comparação das médias entre anos, já que as diferenças entre os dois anos de cultivo podem decorrer de variações ambientais. Tanto a ANAVA quanto a comparação de médias foram conduzidos utilizando o software estatístico SISVAR[®] (Ferreira, 2019). Por fim, análises de componentes principais (PCA) foram realizadas com o software R.

3.2.6 Análises de Comunidades Microbianas

Objetivando a determinação da diversidade microbiana nas raízes, no segundo ano de experimento coletaram-se raízes finas da camada superficial do solo (0,00-0,20 m) de seis plantas de milho da área útil da parcela, por ocasião do florescimento da cultura. Essa coleta foi realizada apenas para os tratamentos testemunha não inoculada com BPCP, *N. amazonense* e *Bur. vietnamiensis*, por serem as duas melhores segundo a classificação do capítulo anterior, além de suas combinações com *R. clarum*. Foram coletadas amostras dos três primeiros blocos do experimento. Assim, foram coletadas três repetições de seis tratamentos diferentes, resultando em 18 amostras.

As raízes coletadas foram lavadas, congeladas em N líquido e armazenadas em ultrafreezer à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em seguida, as amostras de raízes foram maceradas com N líquido e depois submetidas ao processo de extração do DNA utilizando-se o kit DNeasy Power-Soil Pro – QIAGEN. O material foi enviado para a empresa NOVOGENE – USA para o sequenciamento dos amplicons das regiões 16S, ITS1 e 28S do rDNA, considerados marcadores genéticos para a identificação de bactérias, fungos totais, e FMA, respectivamente. Os primers utilizados para a caracterização das comunidades bacterianas foram: 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') e 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')

para a região V3/V4 do 16S; para as comunidades fúngicas ITS1F (5-CTTGGTCATT-TAGAGGAAGTAA-3') e ITS2 (5-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'), na região ITS1; e para caracterizar mais especificamente as comunidades micorrízicas, os primers FLR3 (5-TTGAAAGGGAAACGATTGAAGT-3') e FLR4 (5-TACGTCAACATCCT-TAACGAA-3'), na região do domínio 2 do 28S.

Esse processo de sequenciamento foi realizado na empresa Novogene da seguinte forma: O DNA genômico total das amostras foi extraído utilizando o método CTAB/SDS. A concentração e a pureza do DNA foram monitoradas em géis de agarose a 1%. Com base na concentração obtida, o DNA foi diluído em água estéril para alcançar a concentração de 1 ng/μL. As regiões específicas dos genes 16S rRNA, 18S rRNA e ITS foram amplificadas utilizando os primers específicos citados acima, todos contendo um *barcode*. Todas as reações de PCR foram realizadas utilizando o Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs). Uma alíquota dos produtos de PCR foi misturada com um volume equivalente de tampão de carregamento 1X contendo SYB Green. Essa mistura foi submetida à eletroforese em gel de agarose a 2% para detecção dos fragmentos. As amostras que apresentaram uma banda principal brilhante entre 400-450 pares de bases (pb) foram selecionadas para as etapas subsequentes. Os produtos de PCR selecionados foram misturados em proporções equidensitárias e purificados utilizando o Qiagen Gel Extraction Kit (Qiagen, Alemanha). As bibliotecas de sequenciamento foram geradas utilizando o kit NEBNext® Ultra DNA Library Prep Kit for Illumina, seguindo as recomendações do fabricante, com a adição de códigos de índice (*index codes*). A qualidade das bibliotecas foi avaliada por meio do Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) e do sistema Agilent Bioanalyzer 2100. Por fim, o sequenciamento foi realizado em uma plataforma Illumina, gerando leituras *paired-end* de 250 pb.

3.2.7 Análise de Bioinformática

3.2.7.1 Processamento dos dados

A qualidade inicial das sequências foi avaliada pelo programa "FastQC" (versão 0.11.9; Andrews, 2010). Em seguida, as bibliotecas foram analisadas pelas funções "fastx_info" e "fastq_eestats2" do programa "USEARCH" (versão 11.0.667; Edgar, 2010), que permitiram verificar a distribuição de qualidade, tamanho das sequências e erros esperados. A função "search_oligodb" foi usada para detectar a presença e posição

dos primers. Com base nos resultados obtidos, procedeu-se a remoção dos primers e dos barcodes localizados a montante destes, utilizando o programa "Atropos" (versão 1.1.31; Didion *et al.*, 2017). Uma segunda execução do "Atropos" foi necessária para a remoção de possíveis adaptadores de sequenciamento. Ademais, o "Fastp" (versão 0.23.2; Chen *et al.*, 2018) foi empregado para excluir sequências completas com média de qualidade Phred inferior a Q25 ("--average_qual 25"). Os pares de sequências processadas foram fundidas por meio do programa "PEAR" (versão 0.9.11; Zhang *et al.*, 2014), com uma sobreposição mínima de 10 pares de bases ("--min-overlap 10").

As leituras fundidas foram processadas utilizando o pipeline "DADA2" (Callahan *et al.*, 2016), implementado no pacote "dada2" para o programa estatístico "R" (versão 4.1.2; R Core Team, 2023). Inicialmente, as leituras foram filtradas pela função "filterAndTrim", ajustando-se para um erro esperado máximo de 2 ("maxEE = 2"). Após estimar as probabilidades de erro nas bases ("learnErrors"), corrigiu-se as sequências baseando-se no modelo obtido (função "dada"). As sequências foram agrupadas em Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) através do programa "VSEARCH" (versão 32.22.1; Rognes *et al.*, 2016), considerando uma similaridade de 97% entre as sequências ("--id 0.97") e elegendo a sequência mais abundante como representante.

As OTUs obtidas para o marcador do 16S foram anotadas contra a última versão do banco de dados de sequências-referência "RDP" (versão 18, de julho de 2020; Cole *et al.*, 2014) para classificá-las taxonomicamente. As OTUs não anotadas como bactérias ou arqueias, bem como aquelas anotadas como cloroplastos ou mitocôndrias, foram filtradas. A anotação taxonômica das OTUs do sequenciamento ITS1 foi efetuada com a mais recente edição do banco de dados de sequências-referência "UNITE" (versão 25.07.2023; Abarenkov *et al.*, 2022). Foram excluídas as OTUs que não foram classificadas como fungos ou aquelas identificadas como plantas ou outros eucariotos.

As OTUs obtidas para o marcador 28S foram anotadas contra a última versão do banco de dados de sequências-referências "UNITE+INSDC" (v.9.0). Foram desconsideradas OTUs não-anotadas a nível de reino (Fungi) e sequências não-identificadas a nível de filo foram manualmente curadas através de BLAST ("blastn") contra o banco de dados de nucleotídeos ("nt") do "National Center for Biotechnology Information" - NCBI (<https://ncbi.nlm.nih.gov>) e MARJAAM (<https://maarjam.ut.ee/>) para localização de contaminantes ou complementação das classificações.

As contagens e informações taxonômicas foram registradas utilizando o formato "phyloseq" do Pacote R "phyloseq" (versão 1.38.0; McMurdie e Holmes, 2013).

Posteriormente, o objeto phyloseq foi convertido em dados composicionais usando a função "phyloseq_standardize_otu_abundance" do pacote R "metagMisc" (versão 0.04; Mikryukov, 2022), para realizar as análises de microbioma.

3.2.7.2 Análises descritivas e estatísticas do microbioma

A efetividade da amostragem foi avaliada por meio das curvas de rarefação, utilizando a análise "amp_rarecurve" do pacote R "ampvis2" (versão 2.7.17; Andersen *et al.*, 2018). Visto que a menor biblioteca de 16S rRNA apresentou quantidade inferior ao número de sequências necessárias para representar a fase assintótica da curva de rarefação na maioria das amostras, o processo de rarefação não foi realizado para esse conjunto. Para ITS1 e 28S, as amostras foram rarefeitas até a biblioteca com o menor número de sequências disponíveis (72,994 para ITS1 e 117,912 para 28S), e todas as análises subsequentes foram realizadas com base nesses dados rarefeitos.

A alfa diversidade foi estimada verificando a riqueza (observada e índice de Chao1) e medidas de diversidade (índice de Shannon e Gini-Simpson), obtidas com a função "alpha" do pacote R "microbiome" (versão 1.16.0; Lahti e Shetty, 2012). Então foi feita comparação estatística utilizando abordagem "Two-Way Anava", onde os fatores foram considerados isoladamente (F1 e F2) e em interação (Tratamentos [F1 * F2]). Se significativas, as múltiplas comparações pareadas foram realizadas usando o pacote R emmeans (versão 1.10.0; Lenth, 2023), que utiliza o método Šidák para ajuste do valor P ($p\text{-valor} < 0.05$).

A análise de beta diversidade foi realizada pelo cálculo da dissimilaridade de Bray-Curtis entre as amostras, obtida pela função "distance" do pacote R "phyloseq". Realizou-se uma análise "Two-Way" PERMANOVA (função "adonis" do pacote R "vegan"; versão 2.6.2; Oksanen *et al.*, 2019) para avaliar se houve um efeito significativo entre os fatores e sua interação ($p\text{-valor} < 0.05$). Para reduzir a multidimensionalidade das distâncias, realizou-se uma Análise de Coordenadas Principais (PCoA), utilizada posteriormente para a plotagem do gráfico.

Além disso, as funções bacterianas relacionadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas foram preditas pelo "FAPROTAX" (versão 1.2.7; Louca *et al.*, 2016), que pode mapear clados para funções relevantes com base na literatura sobre cepas cultivadas. O potencial funcional ecológico fúngico (de acordo com os táxons fúngicos identificados pelo sequenciamento do marcador ITS1) foi inferido utilizando a ferramenta "FUNGuild"

(versão 1.1; Nguyen *et al.*, 2016), que associa táxons a funções ecossistêmicas importantes com base em evidências disponíveis na literatura.

Por fim, foi realizada correlação de Pearson entre as principais OTUs encontradas com os sequenciamentos 16S, ITS1 e 28S, incluindo-se as OTUs dos gêneros bacterianos (*Nitrospirillum* e *Burkholderia*) e fúngicos (*Rhizoglossus* – consta no banco de dados a sinonímia *Rhizophagus*) inoculados e os componentes de produção, produtividade e nutrição de plantas e grãos com a função "corr.test" do pacote R "psych" (versão 2.2.5; Revelle, 2022).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Componentes de produção e produtividade

A análise conjunta considerando as inoculações dos fatores BPCP e FMA e as parcelas subdivididas no tempo, demonstrou significância para o fator Anos em algumas variáveis da cultura do milho. No entanto, não foi feita comparação entre as médias dos dois anos por não ser o objetivo deste trabalho e porque essa variação esperada decorre de fatores ambientais não controlados. O ICF foi influenciado pelas BPCP inoculadas, de modo que com a inoculação de *Azot. beijerinckii* ou *N. amazonense*, as plantas apresentaram menor ICF em relação aos outros tratamentos bacterianos (Tabela 3.2).

O diâmetro do colmo das plantas de milho foi influenciado pela interação entre as inoculações com BPCP e FMA. O desdobramento desta interação revelou que a coinoculação da bactéria *Az. brasilense* com *R. clarum* aumentou o diâmetro do colmo de milho em 6,10% (Figura 3.2). Similarmente, a coinoculação de *B. aryabhattai* com FMA elevou esse parâmetro em 8,20%. Os parâmetros matéria seca da parte aérea, altura de planta e altura de inserção da espiga não foram influenciados pelas BPCP ou FMA inoculados. A colonização de raízes por FMA foi influenciada pela interação entre BPCP e Anos, havendo maior colonização em 2021/22 nas plantas inoculadas com *Bur. vietnamiensis* e não havendo diferenças entre as inoculações bacterianas em 2022/23 (Figura 3.3).

Embora a ANAVA tenha indicado significância para a interação entre BPCP e Anos sobre o número de fileiras por espiga de milho, o desdobramento desses fatores não revelou diferenças entre os tratamentos nos dois anos do trabalho (Tabela Suplementar S3.2). O comprimento de espiga não foi alterado pelos tratamentos realizados.

Por outro lado, houve interação entre BPCP, FMA e o fator Anos para o diâmetro de espiga. O desdobramento dessa interação demonstrou que, em 2021/22, a coinoculação com *B. aryabhatai* e *R. clarum* aumentou o diâmetro da espiga em 1,73% em relação à inoculação da bactéria, apenas (Tabela 3.3). Ainda em 2021/22, as coinoculações de *Az. brasilense*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhatai* e *N. amazonense* com o FMA resultaram em maior diâmetro de espiga de milho, com um aumento máximo de 7,16% (*B. aryabhatai* x *Bur. vietnamiensis*).

A população de plantas não foi influenciada pelas inoculações realizadas, pois mesmo com a ANAVA indicando significância para as bactérias inoculadas, segundo o teste de Scott-Knott, todas as inoculações bacterianas resultaram em população de plantas semelhantes entre si.

Notavelmente, a massa de cem grãos foi influenciada pela interação Anos x BPCP, com o desdobramento indicando que, em 2021/22, esse parâmetro foi maior nos tratamentos testemunha não inoculada com BPCP e inoculados com *Az. brasilense* e *Azot. beijerinckii* (Figura 3.4). No entanto, não ocorreram efeitos significativos das BPCP ou FMA inoculados, nem para a interação entre os dois fatores, sobre a produtividade de grãos de milho em nenhum dos anos do experimento.

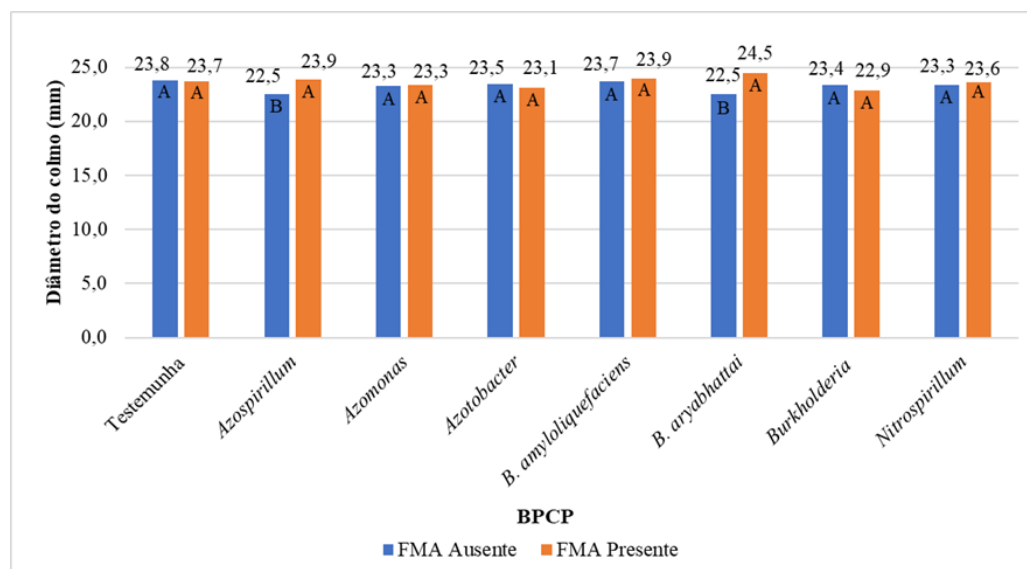
Tabela 3.2 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para índice de clorofila foliar (ICF), massa seca da parte aérea (MSPA), altura de planta (ALTP), altura de inserção de espiga (ALTE), diâmetro do colmo (DC), colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (Colon), para número de fileiras por espiga (Fileiras), número de grãos por fileira (Graofil), comprimento de espiga (Compesp), diâmetro de espiga (Diamesp), população final de plantas (POPF), massa de cem grãos (MCEMG) e produtividade de grãos (PRODUT) em plantas de milho. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	ICF	MSPA	ALTP	ALTE	DC	Colon	Fileiras	Graofil	Compesp	Diamesp	POPF	MCEMG	PRODUT
	p-valor												
BPCP	0,049	0,719	0,940	0,836	0,604	0,082	0,230	0,975	0,995	0,647	0,046	0,193	0,229
FMA	0,539	0,127	0,689	0,836	0,067	0,923	0,081	0,300	0,835	0,914	0,053	0,401	0,944
BPCP x FMA	0,510	0,094	0,248	0,900	0,026	0,696	0,117	0,403	0,955	0,557	0,279	0,277	0,304
Anos (A)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,183	0,203	<0,001	<0,0001	<0,001	0,022	<0,001	<0,001
A x BPCP	0,627	0,752	0,763	0,439	0,329	0,001	0,469	0,048	0,260	0,709	0,901	0,029	0,747
A x FMA	0,471	0,063	0,985	0,892	0,308	0,344	0,282	0,667	0,823	0,627	0,568	0,290	0,408
A x BPCP x FMA	0,244	0,172	0,121	0,807	0,357	0,251	0,290	0,452	0,104	0,001	1,000	0,589	1,000
2) Médias	ICF	MSPA	ALTP	ALTE	DC	Colon	Fileiras	Graofil	Compesp	Diamesp	POPF	MCEMG	PRODUT
BPCP	-	g planta ⁻¹	cm	cm	mm	%	Número	Número	cm	cm	Plantas ha ⁻¹	g	kg ha ⁻¹
Testemunha	61,40 a	197,66	290,23	146,51	23,74	8,53	16,55	36,54	15,93	4,57	50808 a	31,52	7782
<i>Azospirillum brasilense</i>	61,73 a	187,04	290,42	147,97	23,21	6,79	16,51	36,38	16,06	4,58	53064 a	30,83	7776
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	61,73 a	205,83	290,70	144,84	23,32	11,05	16,58	35,95	15,97	4,58	51055 a	30,19	7998
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	58,82 b	193,59	290,20	147,28	23,28	9,95	16,34	36,09	15,96	4,49	54723 a	30,94	7528
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	61,70 a	184,37	289,35	145,52	23,80	11,05	16,49	36,34	16,02	4,58	52598 a	30,43	7514
<i>Bacillus aryabhattai</i>	62,93 a	188,28	290,68	144,84	23,47	9,63	16,15	36,33	15,93	4,57	51103 a	30,48	7657
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	61,71 a	203,86	291,63	145,99	23,12	12,62	16,41	36,15	16,03	4,52	53676 a	30,21	7599
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	59,64 b	203,49	292,01	147,19	23,48	8,84	16,62	36,13	16,05	4,56	52374 a	30,85	7958
FMA (<i>Rhizogloium clarum</i>)													
Ausente	61,02	201,29	290,44	146,15	23,25	9,76	16,37	36,09	15,98	4,56	51776 a	30,79	7730
Presente	61,40	189,74	290,86	146,39	23,61	9,85	16,54	36,39	16,00	4,56	53075 a	30,57	7723
Média geral	61,21	195,51	290,65	146,27	23,43	9,81	16,46	36,24	15,99	4,56	52452	30,68	7726
CV1(%)	4,88	21,49	2,03	4,55	4,70	44,54	3,16	4,36	3,73	3,38	7,05	4,75	8,07
CV2(%)	5,29	21,58	1,78	3,25	4,97	34,93	3,19	3,74	2,93	2,02	9,43	4,90	10,56

Nota: CV1 e CV2(%): coeficientes de variação para parcelas e subparcelas, respectivamente (%). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

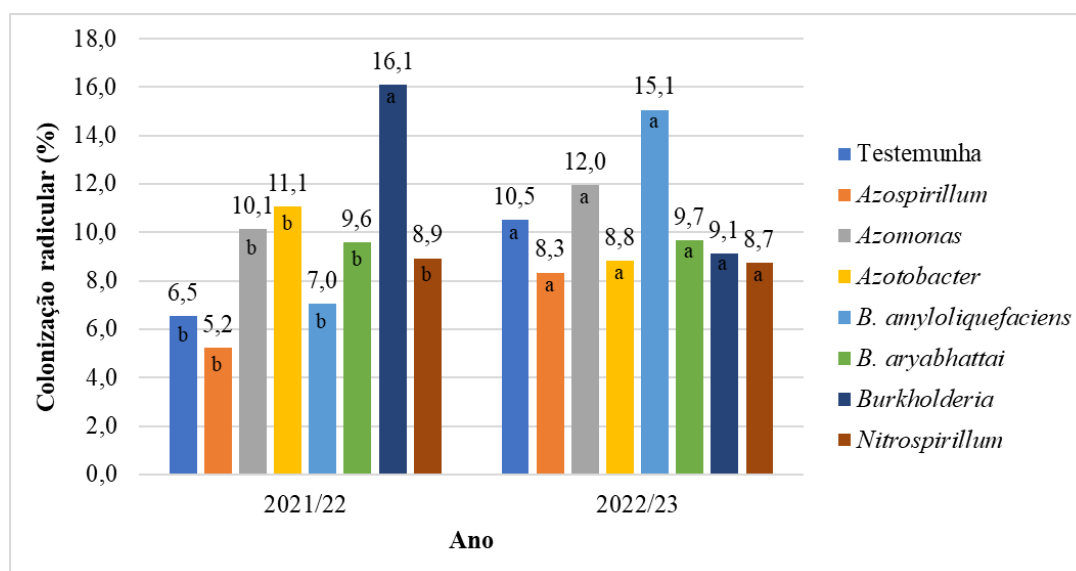
Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 3.2 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossum clarum* (FMA) para diâmetro do colmo de plantas de milho



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA dentro de cada bactéria.
Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 3.3 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para a colonização radicular micorrízica de plantas de milho



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

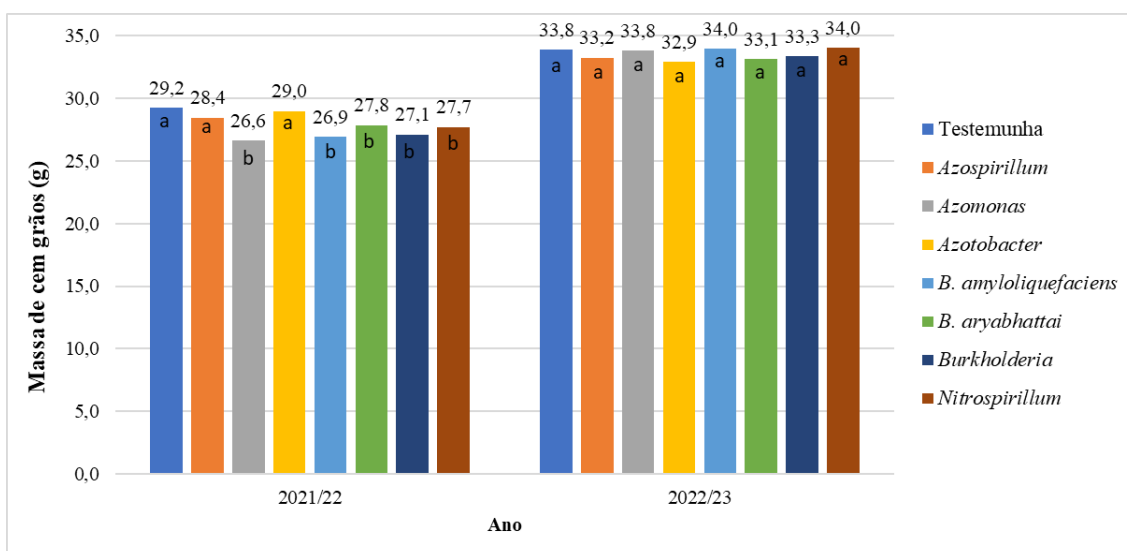
Tabela 3.3 Desdobramento da interação tripla entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Rhizoglosum clarum* (FMA) e anos de experimento para o diâmetro de espiga de milho (mm)

ANO	2021/22		2022/23	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	4,25	4,18 b	4,97	4,89
<i>Azospirillum brasilense</i>	4,19	4,26 a	4,94	4,93
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	4,30	4,16 b	4,90	4,95
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	4,21	4,13 b	4,78	4,86
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	4,28	4,27 a	4,92	4,88
<i>Bacillus aryabhattai</i>	4,08 B	4,38 Aa	4,95	4,89
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	4,22	4,08 b	4,88	4,89
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	4,15	4,31 a	4,89	4,89

Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada ano, diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 3.4 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para massa de cem grãos de milho



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

3.3.2 Nutrição de plantas

Dentre os teores de macronutrientes foliares, a ANAVA interação significativa entre os fatores Anos e FMA para o N, Anos e BPCP para o K (Tabela 3.4), porém o desdobramento dessas interações não indicou diferenças entre as inoculações com FMA ou BPCP dentro de cada ano (Tabelas Suplementares S3.3 e S3.4). Para os micronutrientes foliares, houve influência da interação FMA x BPCP para o teor de Cu. O

desdobramento indicou que dentro da inoculação com FMA, os tratamentos testemunha não inoculada com BPCP e inoculados com as bactérias *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis* resultaram nos maiores teores deste nutriente (Figura 3.5). Ao mesmo tempo, no tratamento testemunha não inoculada com BPCP, a inoculação de FMA elevou o teor de Cu em 10,5%. Na inoculação com a bactéria *Azot. beijerinckii*, o teor de Cu foi 12,1% maior do que sua coinoculação com FMA. Por fim, a coinoculação com *B. aryabhattai* e FMA aumentou em 14,8% o teor de Cu foliar em relação à inoculação apenas da bactéria.

A análise dos teores de nutrientes nos grãos revelou que apenas o teor de Zn foi influenciado pelos tratamentos, havendo uma interação tripla entre BPCP, FMA e Anos (Tabela 3.5). O desdobramento dessa interação evidenciou que, em 2022/23, houve aumento do teor de Zn com as inoculações de *A. macrocytogenes*, *B. aryabhattai* e *N. amazonense* na ausência de *R. clarum* (Tabela 3.6). Por outro lado, na inoculação com o FMA, o maior teor de Zn ocorreu no tratamento testemunha não inoculada com BPCP e nas inoculações com *A. macrocytogenes*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis*.

Além disso, ainda em 2022/23, a coinoculação da bactéria *B. amyloliquefaciens*, com *R. clarum* resultou em aumento do teor de Zn nos grãos em comparação à inoculação apenas da bactéria. O mesmo resultado de aumento no teor de Zn foi notado quando se coinoculou *Bur. vietnamiensis* com *R. clarum*.

A exportação dos macronutrientes N, K, Ca, Mg e S pelos grãos não foi influenciada pelos tratamentos com BPCP e FMA (Tabela 3.7). Porém, um interessante efeito da interação entre as inoculações bacterianas e os anos de experimento é evidenciado na exportação de P pelos grãos. O desdobramento dessa interação indica que, no segundo ano de cultivo, a exportação de P foi maior no tratamento testemunha não inoculada com BPCP e nas inoculações com *A. macrocytogenes* e *N. amazonense* (Figura 3.6).

Em relação aos micronutrientes analisados, somente a exportação de Zn foi alterada pelos fatores BPCP e Anos. O desdobramento desta interação evidenciou que a exportação de Zn foi notadamente maior após a inoculação com as bactérias *A. macrocytogenes* e *N. amazonense* (Figura 3.7), atingindo um aumento máximo de 23,62% ao se comparar o maior e menor valores numéricos (*A. macrocytogenes* comparado com *Azot. beijerinckii*).

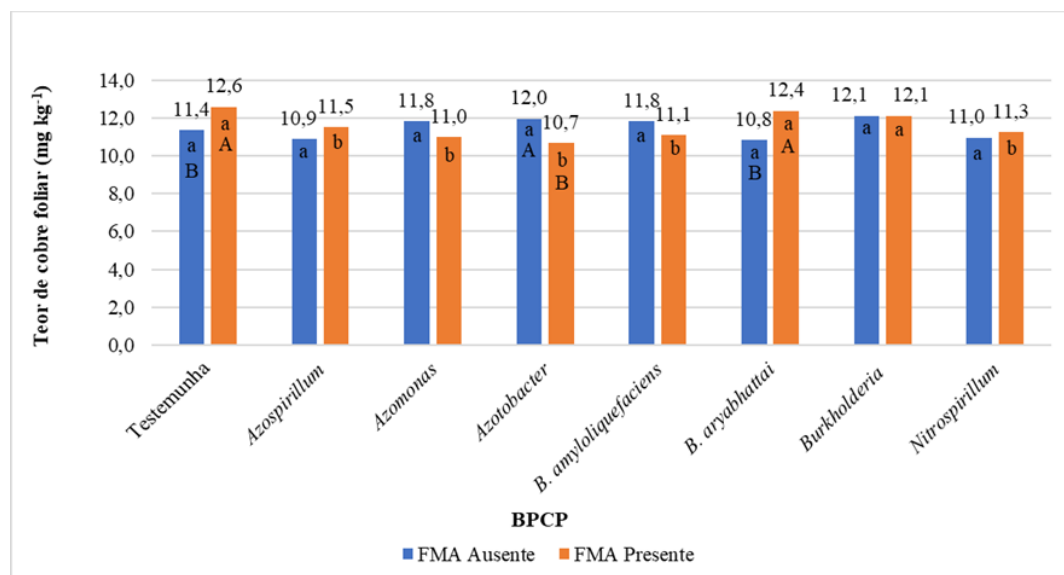
Tabela 3.4 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para os teores de nutrientes foliares (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, cobre - Cu, ferro - Fe, manganês - Mn e zinco - Zn) do milho. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
	p-valor									
BPCP	0,551	0,342	0,397	0,439	0,674	0,249	0,170	0,447	0,498	0,303
FMA	0,973	0,256	0,103	0,869	0,966	0,693	0,630	0,571	0,357	0,983
BPCP x FMA	0,772	0,496	0,287	0,744	0,463	0,231	0,011	0,527	0,959	0,061
Anos (A)	0,046	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,041	0,226	0,055	<0,001	<0,001
A x BPCP	0,124	0,172	0,018	0,143	0,498	0,610	0,748	0,726	0,780	0,618
A x FMA	0,014	0,953	0,628	0,661	0,302	0,908	0,110	0,819	0,925	0,446
A x BPCP x FMA	0,673	0,096	0,152	0,612	0,315	0,549	0,650	0,529	0,455	0,339
2) Médias	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
BPCP	g kg ⁻¹					mg kg ⁻¹				
Testemunha	29,27	2,73	30,51	4,00	7,59	3,53	11,97	266,67	136,73	72,52
<i>Azospirillum brasilense</i>	28,93	2,56	30,72	3,72	7,48	3,27	11,19	258,08	128,50	68,41
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	28,46	2,60	30,12	3,98	7,55	3,43	11,41	254,00	137,42	71,15
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	29,23	2,63	30,54	3,69	7,51	3,39	11,31	259,25	130,67	69,25
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	29,65	2,61	30,76	3,82	7,44	3,46	11,46	249,58	134,08	70,63
<i>Bacillus aryabhattai</i>	29,37	2,68	30,98	3,97	7,56	3,50	11,61	265,83	133,75	70,15
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	29,71	2,62	30,69	3,83	7,53	3,62	12,11	252,42	133,58	71,83
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	29,66	2,60	30,28	3,81	7,51	3,46	11,10	241,67	127,27	67,33
FMA (<i>Rhizoglosum clarum</i>)										
Ausente	29,28	2,61	30,42	3,85	7,52	3,47	11,47	257,63	131,50	70,15
Presente	29,29	2,65	30,73	3,86	7,52	3,45	11,57	254,25	134,00	70,17
Média geral	29,29	2,63	30,57	3,85	7,52	3,46	11,52	255,94	132,75	70,16
CV1(%)	5,44	6,38	3,00	10,52	2,52	8,66	8,51	11,28	9,89	7,69
CV2(%)	5,61	6,49	2,05	8,48	2,38	8,75	10,61	9,31	9,34	6,29

Nota: CV1 e CV2(%): coeficientes de variação para parcelas e subparcelas, respectivamente (%).

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 3.5 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossum clarum* (FMA) para teor foliar de cobre de milho



Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas dentro de cada inoculação com FMA e maiúsculas dentro de cada BPCP, não diferem entre si pelo teste F e pelo teste de Scott-Knott (5%), respectivamente.
 Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela 3.5 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para teores de nutrientes (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, cobre - Cu, ferro - Fe, manganês - Mn e zinco - Zn) em grãos de milho. 2). Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
	p-valor									
BPCP	0,581	0,351	0,497	0,468	0,837	0,852	0,728	0,475	0,302	0,234
FMA	0,871	0,805	0,849	0,988	0,537	0,214	0,755	0,896	0,718	0,856
BPCP x FMA	0,925	0,497	0,945	0,191	0,663	0,842	0,286	0,085	0,184	0,115
Anos (A)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,595	<0,001
A x BPCP	0,571	0,155	0,114	0,937	0,463	0,710	0,421	0,225	0,357	0,139
A x FMA	0,075	0,319	0,798	0,332	0,667	0,476	0,113	0,843	0,534	0,976
A x BPCP x FMA	0,526	0,443	0,149	0,136	0,224	0,443	0,676	0,403	0,855	0,006
2) Médias	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
BPCP	----- g kg ⁻¹ -----					----- mg kg ⁻¹ -----				
Testemunha	18,40	5,85	18,16	0,32	6,96	1,84	5,17	78,75	28,42	125,17
<i>Azospirillum brasilense</i>	18,19	5,60	17,85	0,35	6,89	1,90	4,31	77,81	28,10	122,65
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	18,72	6,20	18,34	0,30	6,99	1,89	5,58	70,98	29,42	129,92
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	18,14	5,82	18,16	0,32	6,93	1,94	5,21	78,96	27,33	123,17
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	18,32	5,88	18,11	0,29	6,93	1,90	5,77	81,33	28,00	125,91
<i>Bacillus aryabhattai</i>	18,29	6,13	18,47	0,29	6,95	2,01	5,47	85,75	29,92	129,50
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	18,15	5,88	18,44	0,30	6,91	1,95	4,67	79,60	27,88	127,33
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	17,80	6,03	18,52	0,31	6,90	1,94	4,81	76,72	29,31	124,18
FMA (<i>Rhizoglossum clarum</i>)										
Ausente	18,23	5,91	18,24	0,31	6,94	1,96	5,19	78,94	28,65	125,83
Presente	18,27	5,94	18,27	0,31	6,92	1,89	5,05	78,54	28,44	126,13
Média geral	18,25	5,93	18,26	0,31	6,93	1,92	5,12	78,74	28,55	125,98
CV1(%)	5,47	10,37	4,48	21,28	2,45	13,29	42,29	18,70	9,70	6,33
CV2(%)	5,55	9,46	4,07	19,72	1,83	16,04	48,54	18,06	9,72	4,98

Nota: CV1 e CV2(%): coeficientes de variação para parcelas e subparcelas, respectivamente (%).

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela 3.6 Desdobramento da interação tripla entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Rhizoglossum clarum* (FMA) e anos de experimento para o teor de zinco em grãos de milho

ANO	2021/22		2022/23	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	96,00	104,67	148,33 b	151,67 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	100,92	97,67	148,33 b	143,67 b
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	101,33	102,00	163,00 a	153,33 a
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	102,33	102,67	148,00 b	139,67 b
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	93,33	103,33	147,00 Bb	159,97 Aa
<i>Bacillus aryabhattai</i>	107,67	102,33	155,67 a	152,33 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	108,00	97,33	141,67 Bb	162,33 Aa
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	97,67	99,33	154,00 a	145,73 b

Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada ano, não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

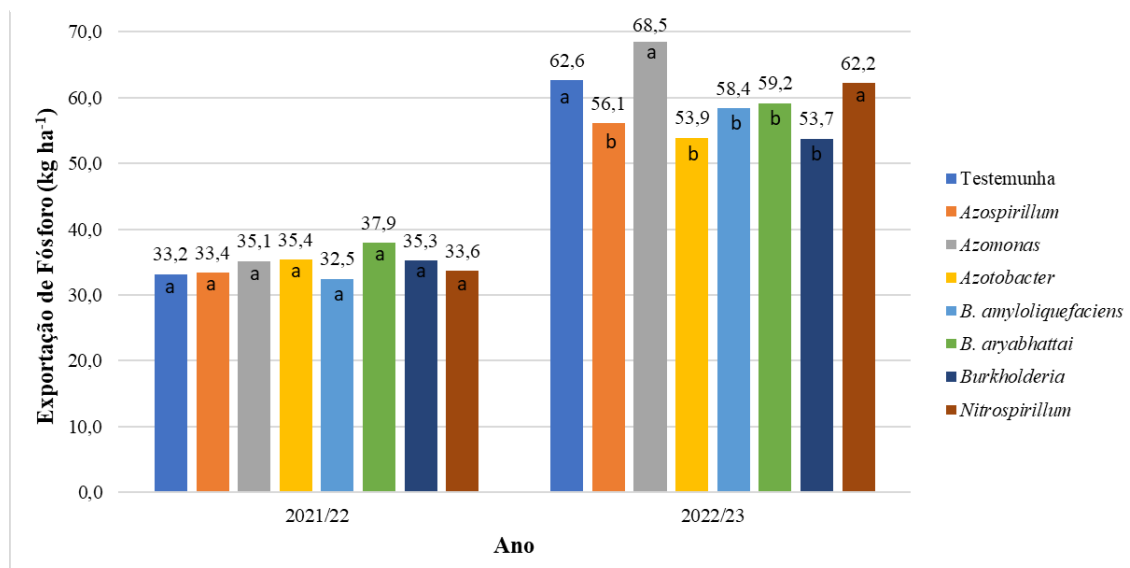
Tabela 3.7 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para exportação de nutrientes (nitrogênio - ExpNitro, fósforo - ExpFosf, potássio – ExpPotas, cálcio - ExpCa, magnésio - ExpMg, enxofre – ExpEnxof, cobre - ExpCobre, ferro - ExpFe, manganês – ExpMn e zinco - ExpZinc) em grãos de milho.
2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	ExpNitro	ExpFosf	ExpPotas	ExpCa	ExpMg	ExpEnxof	ExpCobre	ExpFe	ExpMn	ExpZinc
	p-valor									
BPCP	0,198	0,032	0,224	0,127	0,230	0,830	0,732	0,927	0,223	0,085
FMA	0,525	0,892	0,713	0,738	0,627	0,209	0,423	0,895	0,621	0,535
BPCP x FMA	0,549	0,384	0,844	0,575	0,621	0,825	0,426	0,339	0,588	0,443
Anos (A)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,342	<0,001	<0,001	<0,001
A x BPCP	0,493	0,024	0,128	0,759	0,325	0,555	0,294	0,852	0,561	0,053
A x FMA	0,302	0,884	0,967	0,681	0,911	0,331	0,105	0,724	0,874	0,813
A x BPCP x FMA	0,922	0,572	0,588	0,092	0,934	0,522	0,772	0,887	0,886	0,517
2) Médias	ExpNitro	ExpFosf	ExpPotas	ExpCa	ExpMg	ExpEnxof	ExpCobre	ExpFe	ExpMn	ExpZinc
BPCP	----- kg ha ⁻¹ -----					----- g ha ⁻¹ -----				
Testemunha	146,35	47,90	146,66	2,82	54,73	15,20	37,95	659,48	228,70	1036,42
<i>Azospirillum brasilense</i>	141,75	44,73	141,44	3,07	53,23	15,35	33,91	641,10	220,39	998,55
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	151,18	51,83	151,69	2,66	55,83	15,88	44,46	606,28	233,72	1108,10
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	136,54	44,63	138,79	2,76	51,81	14,97	38,10	617,72	206,15	962,30
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	138,05	45,42	138,70	2,57	51,72	14,74	38,54	646,60	213,51	991,31
<i>Bacillus aryabhatai</i>	140,32	48,53	145,45	2,54	53,70	16,09	40,84	668,53	235,58	1037,40
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	139,48	44,51	143,79	2,60	52,64	15,40	35,43	617,58	216,54	1025,39
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	143,08	47,93	147,96	2,94	54,72	15,63	36,37	651,96	228,62	1047,78
FMA (<i>Rhizoglossum clarum</i>)										
Ausente	141,22	47,01	143,81	2,76	53,33	15,70	39,40	636,86	224,43	1019,07
Presente	142,97	46,86	144,81	2,73	53,76	15,11	37,01	640,45	221,37	1032,74
Média geral	142,09	46,93	144,31	2,74	53,55	15,41	38,20	638,65	222,90	1025,91
CV1(%)	9,42	11,83	9,09	17,87	7,99	14,43	37,77	20,71	13,45	10,41
CV2(%)	12,37	12,11	9,86	18,86	10,31	16,66	44,94	19,10	15,05	10,93

Nota: CV1 e CV2(%): coeficientes de variação para parcelas e subparcelas, respectivamente (%).

Fonte: Dados do próprio autor.

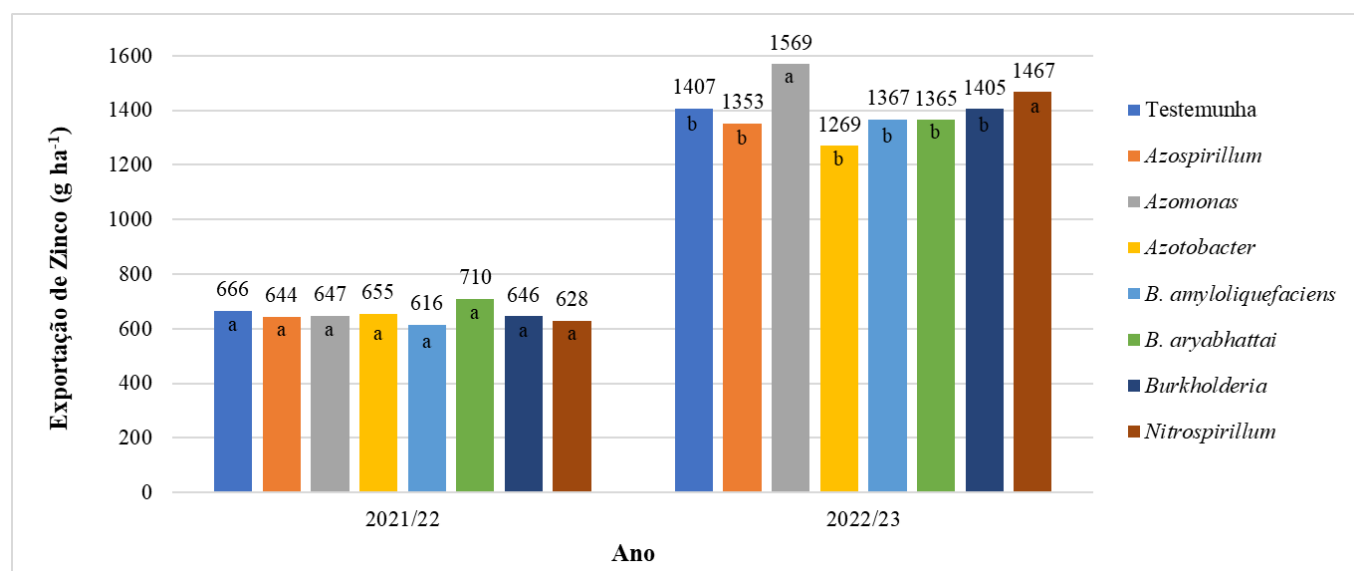
Figura 3.6 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para exportação de P em grãos de milho



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 3.7 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para exportação de zinco em grãos de milho



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

3.3.3 Análise das comunidades microbianas

Um total de 3.622.706; 3.481.466 e 3.658.565 leituras foram obtidas para o sequenciamento das regiões genômicas alvo associadas aos marcadores 16S, ITS1 e 28S, respectivamente, em um total de 18 amostras, que incluem os tratamentos de inoculação com *Nitrospirillum*, *Burkholderia* e o tratamento não inoculado com BPCP, assim como as respectivas combinações com o FMA *R. clarum*.

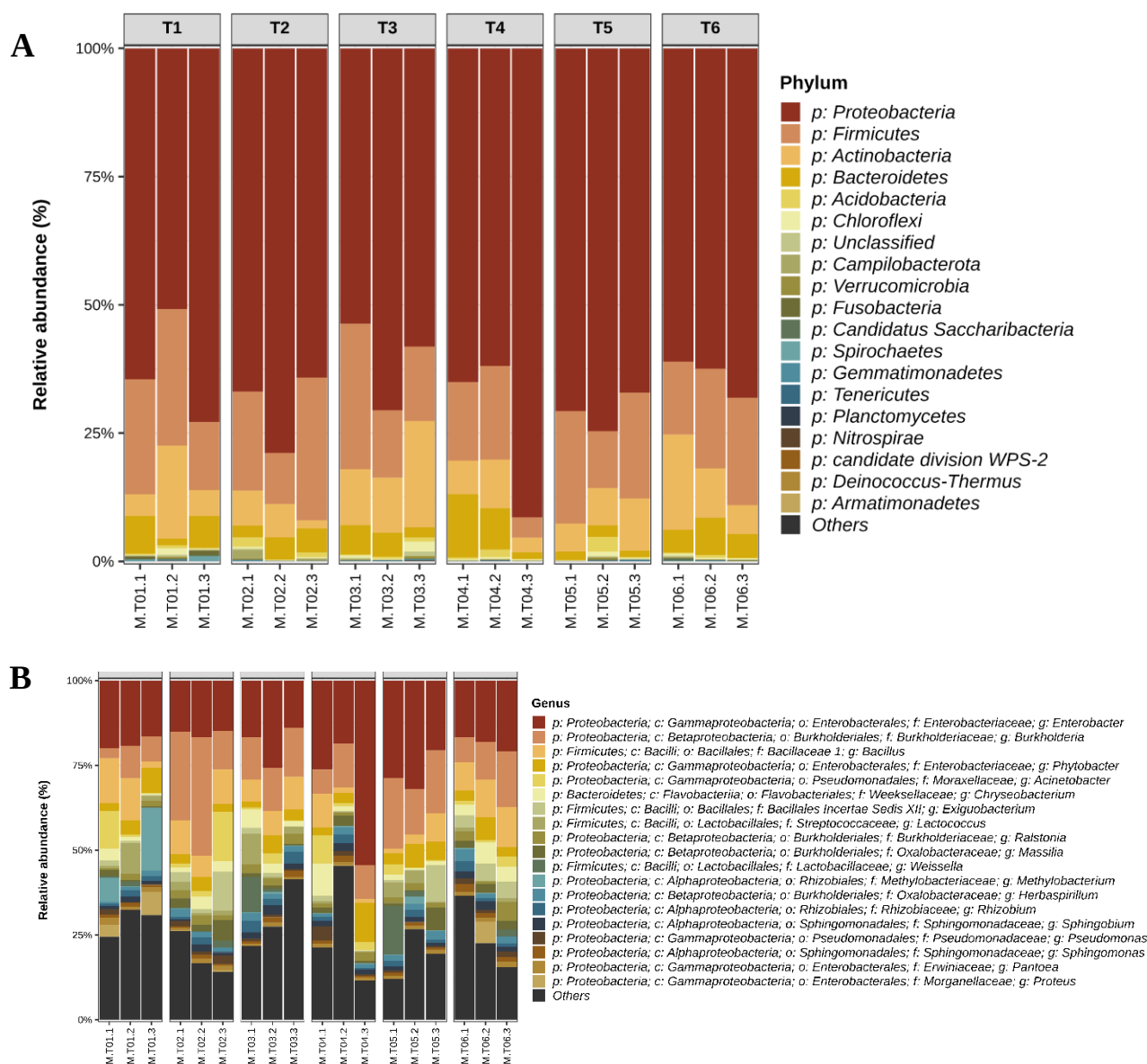
Após a realização do controle de qualidade, foram aproveitadas 52,99%, 81,73% e 74,14% das leituras, ou seja, restaram 1.925.441; 2.838.091 e 2.709.916 leituras para cada marcador no 16S, ITS1 e 28S, nessa ordem. As leituras obtidas resultaram em 7.158, 1.933, 2.116 OTUs para bactérias, fungos totais e FMA, respectivamente. Foi possível classificar os dados até o nível taxonômico de gênero, obtendo-se 95,88% de classificação das sequências do marcador do 16S, 83,35% do ITS1 e 30,20% do 28S.

No perfil taxonômico observado para filo e gênero de bactérias observa-se que Proteobacteria foi o filo com maior ocorrência (66,83%) e que os gêneros *Enterobacter* (21,94%), *Burkholderia* (13,85%), *Bacillus* (7,42%), *Phytobacter* (4,40%) e *Acinetobacter* (2,96%) foram os de maior ocorrência (Figura 3.8).

Com o sequenciamento do ITS1, o perfil taxonômico de fungos obtido para filo e gênero mostra uma dominância do filo Ascomycota, apresentando 74,44% de ocorrência (Figura 3.9). Os gêneros fúngicos de maior ocorrência nas raízes de milho foram *Fusarium*, *Epicoccum*, *Exophiala*, *Poaceascoma* e *Phaeosphaeria*, com 11,96%, 5,02%, 4,96%, 4,80% e 3,14% de ocorrência, respectivamente.

O perfil taxonômico obtido para os FMA, os quais pertencem todos ao filo Glomeromycota, indicou que classe mais predominante encontrada foi Glomeromycetes (42,78%), predominando os gêneros *Claroideoglomus*, *Rhizophagus*, *Acaulospora*, *Dentiscutata* e *Cetraspora*, com ocorrência média de 6,52%, 4,18%, 4,09%, 3,57% e 3,07%, nessa ordem (Figura 3.10).

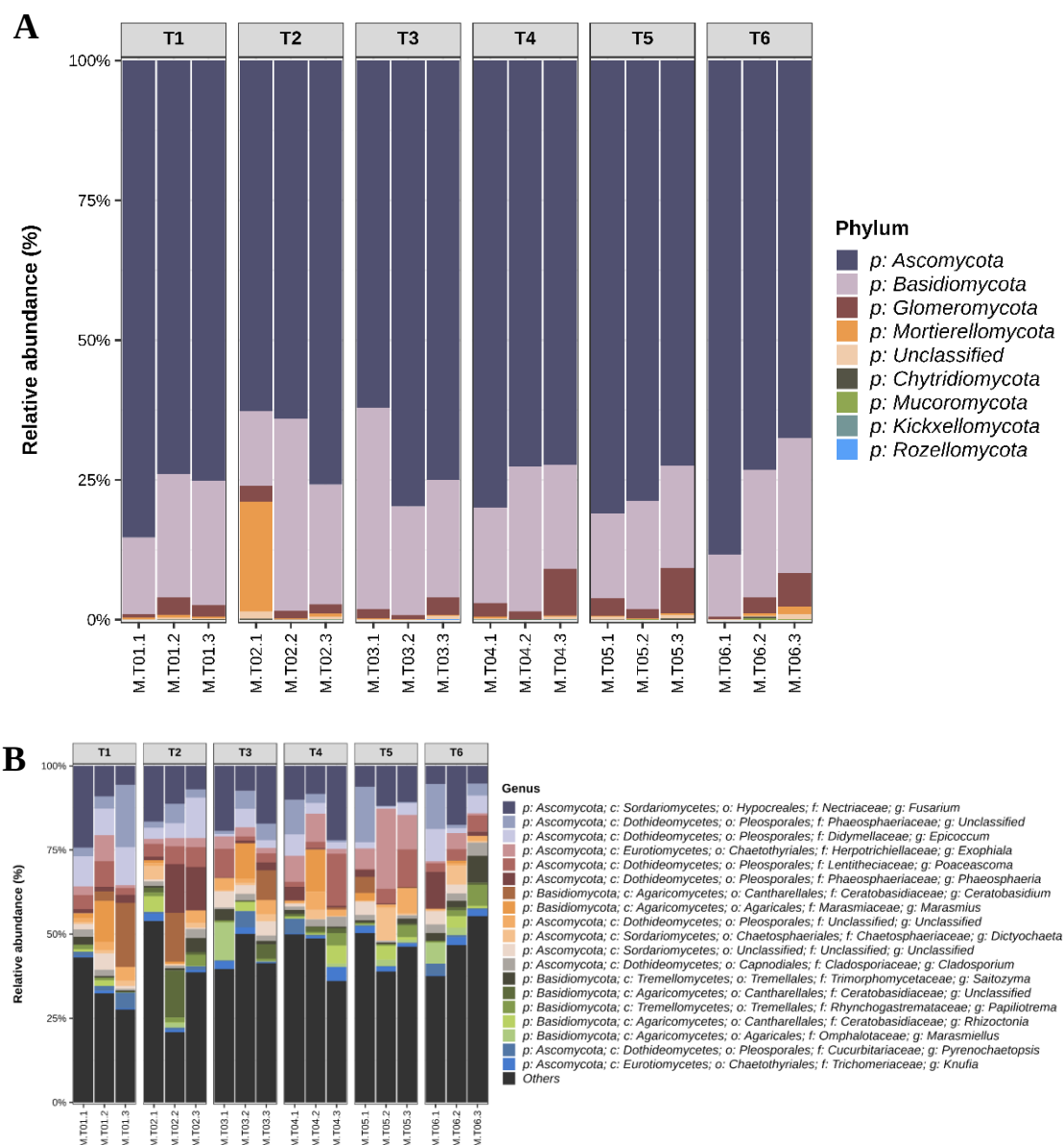
Figura 3.8 Abundância relativa dos 20 filós (A) e 20 gêneros (B) mais comuns da comunidade bacteriana em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglossum clarum*



Nota: T01, T02, T03, T04, T05, T06: tratamento testemunha não inoculada com BPCP, inoculação com *Rhizoglossum clarum*, *Nitrospirillum amazonense*, *N. amazonense* + *R. clarum*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Bur. vietnamiensis* + *R. clarum*, respectivamente. B.T01.1; B.T01.2; B.T01.3: comunidade microbiana das raízes de feijão nas repetições 1, 2 e 3 do tratamento T01, respectivamente.

Fonte: Dados do próprio autor.

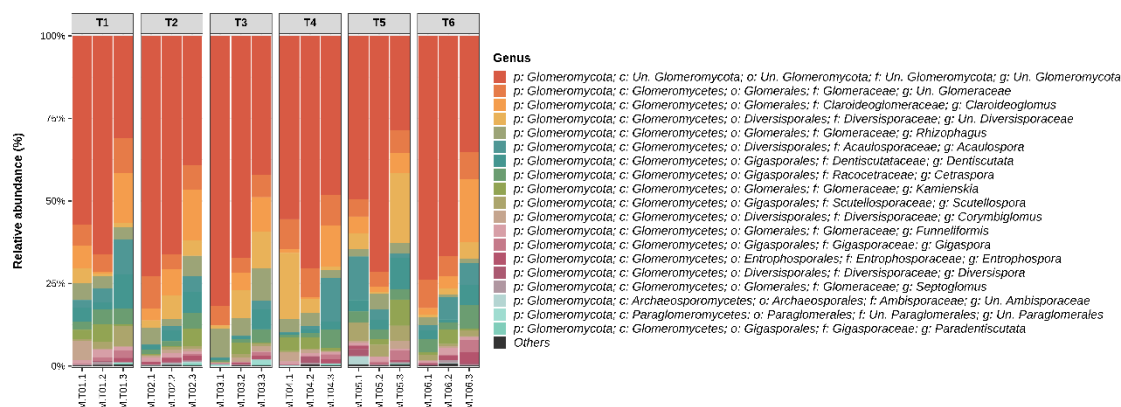
Figura 3.9 Abundância relativa dos 20 filós (A) e 20 gêneros (B) mais comuns da comunidade fúngica em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglyphus clarum*



Nota: T01, T02, T03, T04, T05, T06: tratamento testemunha não inoculada com BPCP, inoculação com *Rhizoglyphus clarum*, *Nitrospirillum amazonense*, *N. amazonense* + *R. clarum*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Bur. vietnamiensis* + *R. clarum*, respectivamente. B.T01.1; B.T01.2; B.T01.3: comunidade microbiana das raízes de feijão nas repetições 1, 2 e 3 do tratamento T01, respectivamente.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 3.10 Abundância relativa dos 20 gêneros mais comuns da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglyphus clarum*



Nota: T01, T02, T03, T04, T05, T06: tratamento testemunha não inoculada com BPCP, inoculação com *Rhizoglyphus clarum*, *Nitrospirillum amazonense*, *N. amazonense* + *R. clarum*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Bur. vietnamiensis* + *R. clarum*, respectivamente. B.T01.1; B.T01.2; B.T01.3: comunidade microbiana das raízes de feijão nas repetições 1, 2 e 3 do tratamento T01, respectivamente.

Fonte: Dados do próprio autor.

A diversidade alfa das comunidades bacterianas, fúngicas e de FMA nas raízes de milho não foi influenciada pelas inoculações de BPCP e FMA, como demonstrado pela ausência de efeitos significativos de ambos os fatores, e pela falta de diferenças significativas entre os tratamentos experimentais, tanto de inoculação simples quanto combinadas (Tabela 3.8).

No entanto, o teste PERMANOVA para a diversidade beta da comunidade bacteriana, calculada a partir das distâncias de Bray–Curtis, indicou uma interação significativa entre os fatores BPCP e FMA. Porém, no PCoA não se observa uma clara separação entre os diferentes grupos (Figura Suplementar S3.3). Para as comunidades fúngica e mais especificamente dos FMA, não houve efeito dos fatores estudados na diversidade beta, segundo as mesmas análises (Figuras Suplementares S3.4 e S3.5).

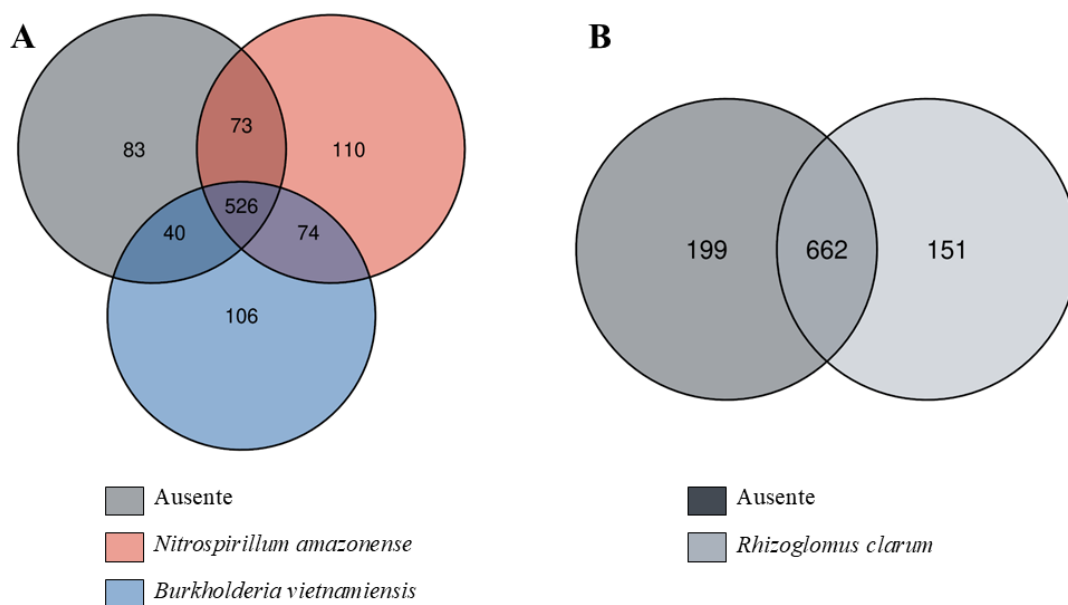
Tabela 3.8 Valores de p da ANAVA de dois fatores realizada para índices de diversidade alfa para as comunidades bacterianas, fúngicas e de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e de *Rhizoglyphus clarum* (FMA)

Comunidade bacteriana				
Fator	Riqueza observada	Chao1	Shannon	Gini-Simpson
BPCP (B)	0,912	0,912	0,920	0,803
FMA (F)	0,353	0,353	0,548	0,472
B x F	0,828	0,828	0,166	0,168
Comunidade fúngica				
Fator	Riqueza observada	Chao1	Shannon	Gini-Simpson
BPCP (B)	0,522	0,599	0,762	0,790
FMA (F)	0,480	0,416	0,269	0,238
B x F	0,893	0,901	0,535	0,557
Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares				
Fator	Riqueza observada	Chao1	Shannon	Gini-Simpson
BPCP (B)	0,876	0,869	0,259	0,326
FMA (F)	0,818	0,836	0,437	0,534
B x F	0,333	0,333	0,619	0,433

Fonte: Dados do próprio autor.

Os diagramas de Venn realizados para estudar os gêneros bacterianos exclusivos ou compartilhados de cada tratamento experimental de inoculação com BPCP e/ou FMA (Figura 3.11) demonstra que dentro do fator BPCP, houveram 526 gêneros compartilhados entre os tratamentos. A testemunha não inoculada com BPCP apresentou 83 gêneros exclusivos, destacando-se os gêneros *Oribacterium*, *Viridibacillus* e *Saliniramus*. A inoculação com *N. amazonense* apresentou 110 gêneros exclusivos, sobressaindo-se *Eisenbergiella*, *Thiobacillus* e *Pseudoxanthobacter*. Por fim, 106 gêneros exclusivos foram encontrados nas raízes de plantas inoculadas com *Bur. vietnamiensis*, sendo os gêneros *Rurimicrobium*, *Cystobacter* e *Testudinibacter* os de maior ocorrência. Por outro lado, dentro do fator FMA, foram encontrados 662 gêneros compartilhados entre os tratamentos, sendo que os cinco de maior ocorrência foram os mesmos já citados para o fator BPCP. Na ausência de inoculação com *R. clarum*, notaram-se 199 gêneros exclusivos, predominando os gêneros *Pseudoxanthobacter*, *Craurococcus* e *Turicibacter*. Com a inoculação do FMA, 151 gêneros exclusivos foram constatados, sendo *Planococcus*, *Thiobacillus* e *Fournierella* os três de maior ocorrência.

Figura 3.11 Diagramas de Venn representando gêneros bacterianos compartilhados e exclusivos em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e *Rhizoglomus clarum* (B)

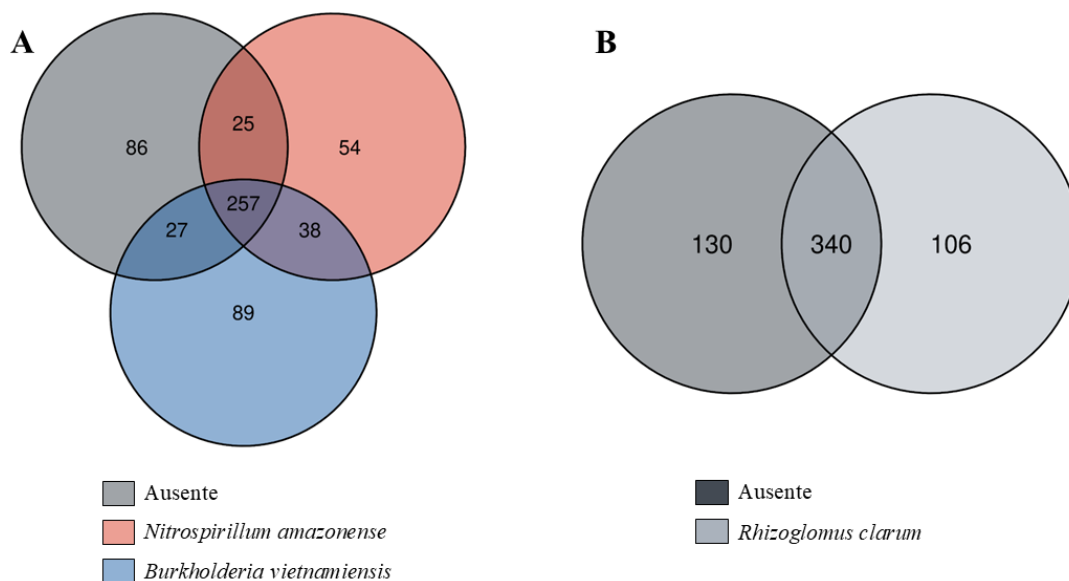


Fonte: Dados do próprio autor.

Um total de 257 gêneros fúngicos foram compartilhados entre os tratamentos de BPCP analisados, conforme diagrama de Venn (Figura 3.12). No tratamento testemunha não inoculada com BPCP, observaram-se 86 gêneros exclusivos, destacando-se *Graphium*, *Gliomastix* e *Setophaeosphaeria*. A inoculação com a bactéria *N. amazonense* resultou em 54 gêneros exclusivos, com predomínio de *Anthostomella*, *Aaosphaeria* e *Neomassarina*. Ocorreram 89 gêneros exclusivos em raízes inoculadas com *Bur. vietnamiensis*, sobressaindo os gêneros *Geminibasidium*, *Rectifusarium* e *Phacidium*. A inoculação com *R. clarum* resultou em 340 gêneros fúngicos comuns aos dois tratamentos (ausência e presença de FMA).

Na ausência de FMA inoculado, 130 gêneros exclusivos foram constatados, destacando-se *Limonomyces*, *Kurtzmanomyces* e *Rectifusarium*. Enquanto que com a inoculação de *R. clarum*, 106 gêneros exclusivos foram notados, tendo *Geminibasidium*, *Graphium* e *Phacidium* como os de maiores ocorrências nesse caso.

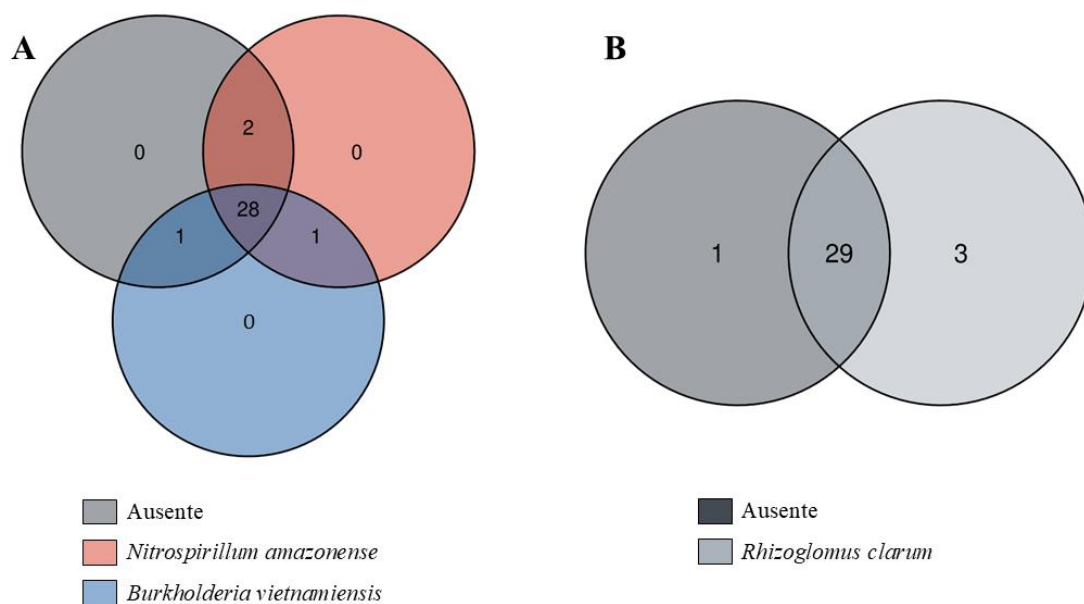
Figura 3.12 Diagramas de Venn representando gêneros fúngicos compartilhados e exclusivos em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e *Rhizoglossus clarum* (B)



Fonte: Dados do próprio autor.

Os diagramas de Venn para as comunidades de FMA nas raízes das plantas de feijão indicaram que 28 gêneros de FMA foram compartilhados entre os tratamentos com BPCP, com maior ocorrência de *Claroideoglomus*, *Rhizophagus* e *Acaulospora* (Figura 3.13), não havendo gêneros de FMA exclusivos para nenhum dos tratamentos. Quanto ao fator FMA, 29 gêneros compartilhados foram observados, um gênero não classificado da família Acaulosporaceae foi exclusivo do tratamento sem inoculação com FMA, enquanto o gênero *Scutellospora* e um gênero não classificado da ordem Glomerales foram exclusivos do tratamento inoculado com *R. clarum*.

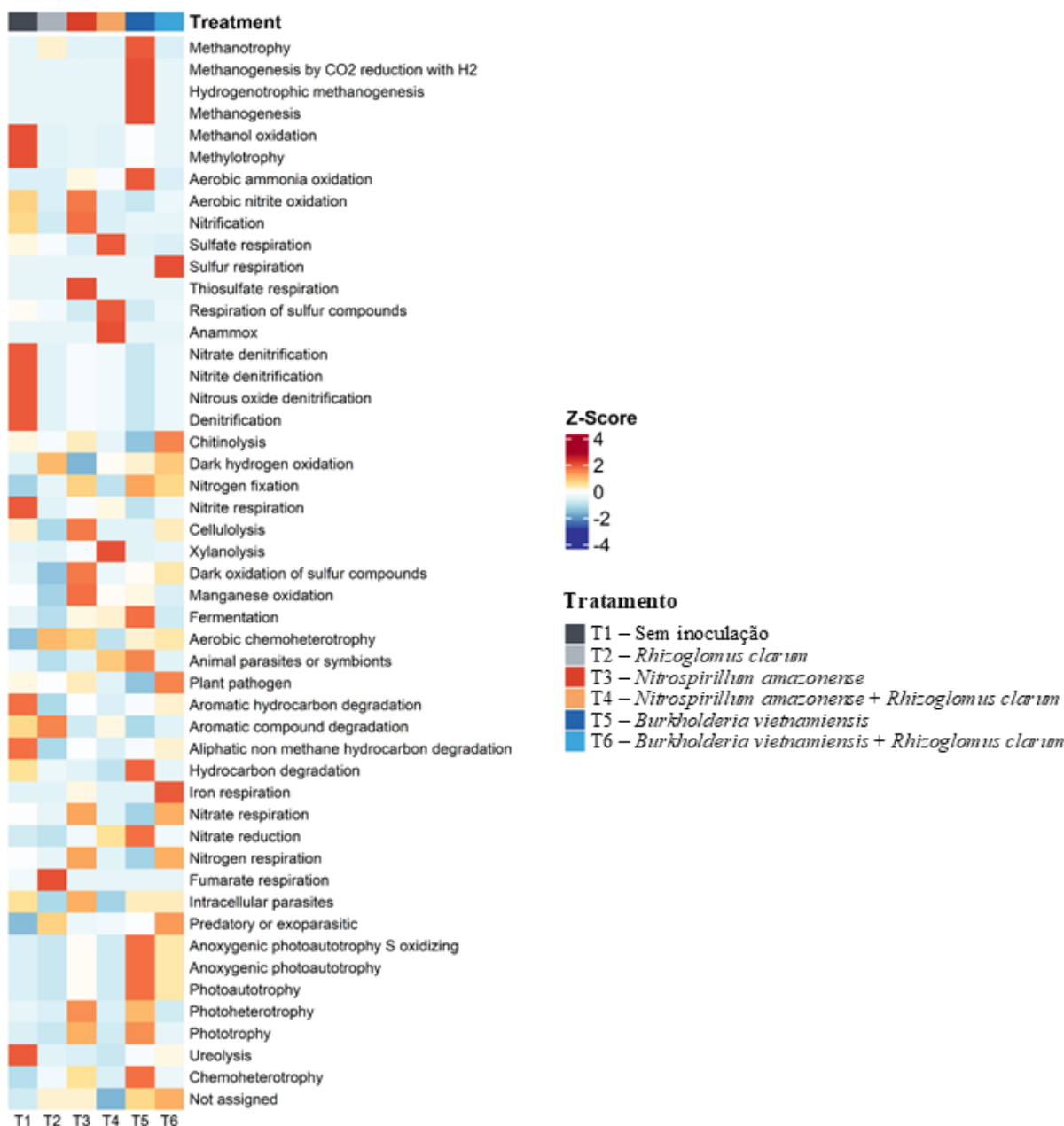
Figura 3.13 Diagramas de Venn representando gêneros de fungos micorrízicos arbusculares compartilhados e exclusivos em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e *Rhizoglossum clarum* (B)



Fonte: Dados do próprio autor.

Utilizando a plataforma FAPROTAX, foi realizada análise de predição da função bacteriana a partir dos dados de sequenciamento da região do 16S rRNA (Figura 3.14). No tratamento testemunha não inoculada com BPCP, os táxons com funções metabólicas de metilotrofia e de oxidação do metanol incrementaram, enquanto que os predatórios ou exoparasitas foram reduzidos. A inoculação apenas de FMA resultou em aumento no número de sequências associadas ao processo de respiração do fumarato. A inoculação de *N. amazonense* aumentou os táxons relacionados à função metabólica de respiração do tiosulfato e reduziu os relacionados à oxidação do hidrogênio escuro. Quando foi feita a coinoculação de *N. amazonense* e *R. clarum*, houve aumento de sequências associadas ao processo de anammox (oxidação anaeróbia da amônia) e xilanólise. A inoculação de *Bur. vietnamiensis* incrementou os táxons relacionados à função de metanogênese. Finalmente, a coinoculação de *Bur. vietnamiensis* com *R. clarum* aumentou sequências associadas ao processo de respiração do enxofre.

Figura 3.14 Funções bacterianas associadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas (conforme a análise FAPROTAX- Functional Annotation of Prokaryotic Taxa) em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglossus clarum*

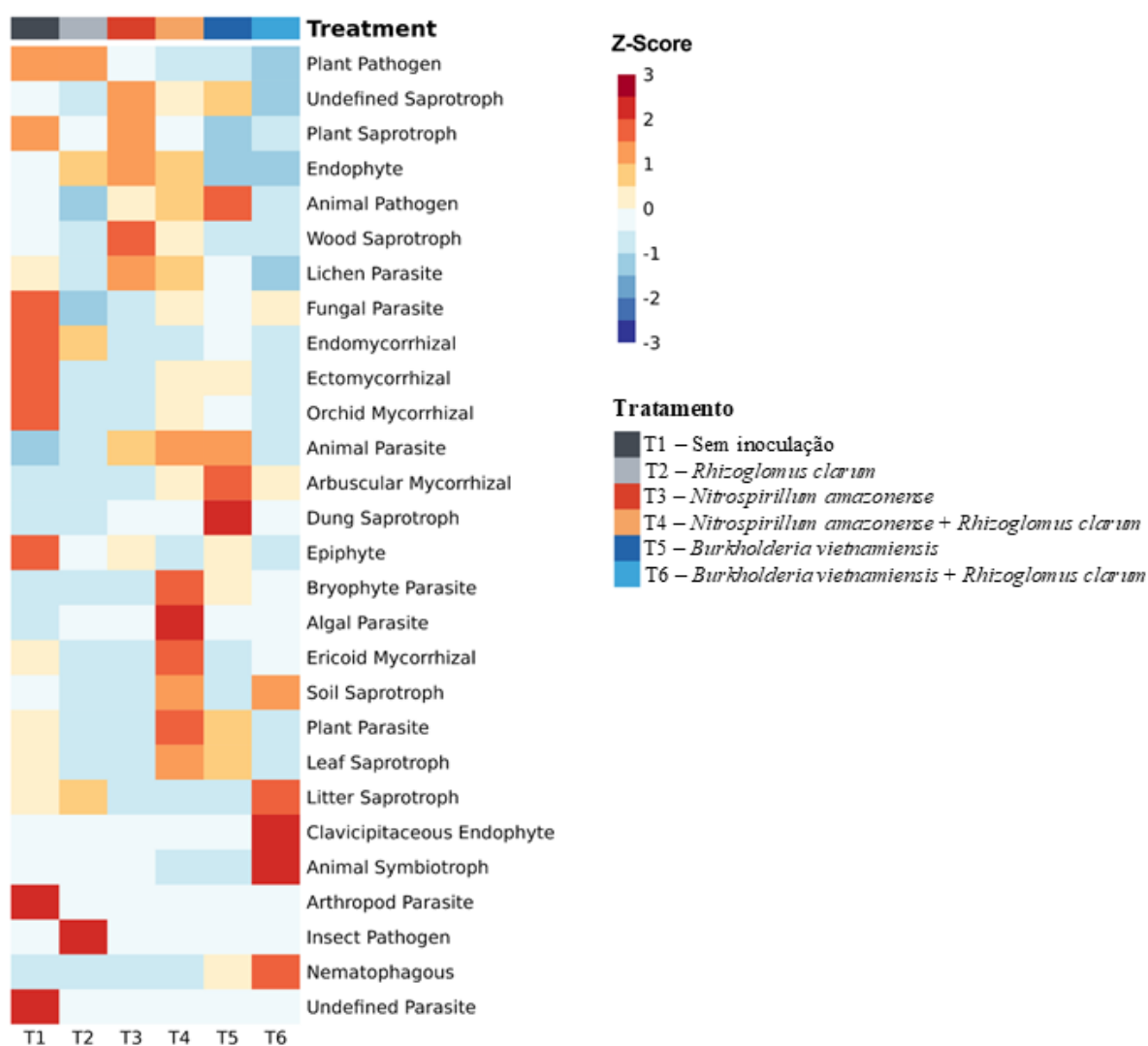


Fonte: Dados do próprio autor.

A estimação das funções fúngicas realizada pela plataforma FUNGUILD (Figura 3.15) demonstra maior número de sequências associadas aos processos de parasitas fúngicos, endomicorrizas, ectomicorrizas e micorrizas orquidóides, fungos epífitos e parasitas de artrópodes. A inoculação de FMA elevou o número de sequências vinculadas à função de patógenos de insetos. A inoculação de *N. amazonense* aumentou os táxons relacionados à função metabólica de saprófitos de madeira, enquanto a coinoculação da bactéria com *R. clarum* aumentou os táxons relacionados às funções de parasitas de algas,

micorrizas ericóides e parasitas de plantas. Finalmente, a inoculação com *Bur. vietnamiensis* inoculada resultou em incremento dos táxons relacionados à função de FMA e saprófitos de esterco. Por outro lado, a coinoculação desta bactéria com *R. clarum* aumentou os táxons vinculados à função metabólica de saprófitos de serrapilheira e nematófagos.

Figura 3.15 Funções fúngicas relacionadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas (conforme a análise FUNGUILD - Fungi Functional Guild) em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglossus clarum*



Fonte: Dados do próprio autor.

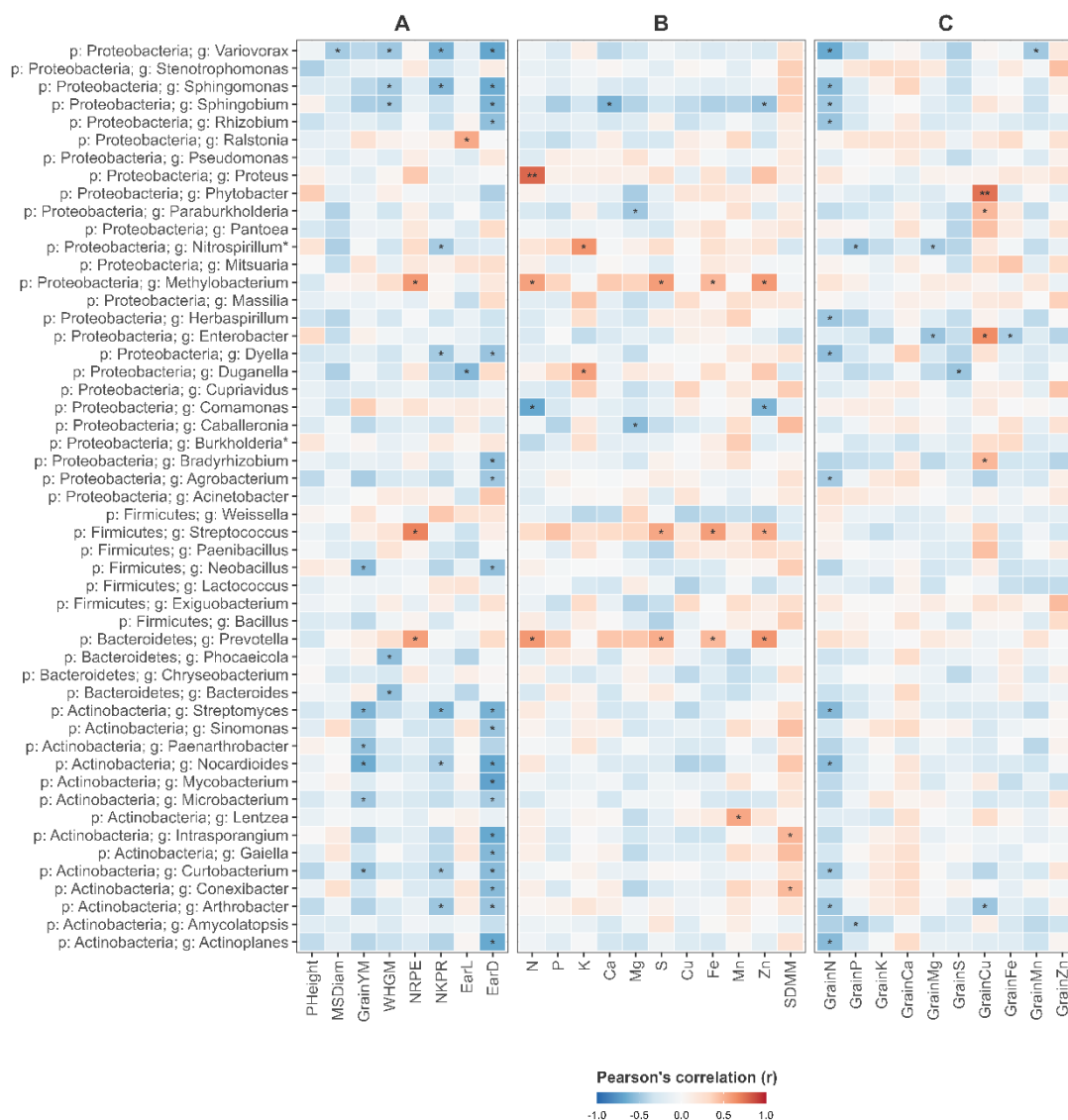
3.3.4 Correlação entre as comunidades microbianas e componentes de produção, produtividade e nutrientes

A correlação de Pearson (considerando apenas $p < 0,01$) entre a abundância relativa dos principais gêneros bacterianos encontrados nas raízes do milho, incluindo-se os três gêneros inoculados (embora estes não se encontrem dentro dos mais abundantes nas raízes), com os parâmetros fitotécnicos e nutricionais da cultura indicou correlação positiva entre a abundância relativa de *Proteus* e o teor de N foliar e de *Phytobacter* e o teor de Cu nos grãos de milho (Figura 3.16). A abundância do gênero inoculado *N. amazonense* se correlacionou negativamente (mas apenas com $p < 0,05$) com o número de grãos por fileira e os teores de P e Mg nos grãos. Não houve correlações significativas entre a abundância de *Bur. vietnamiensis* e os parâmetros da cultura considerados ($p < 0,05$).

Já considerando a abundância dos gêneros fúngicos mais abundantes (Figura 3.17), verificou-se correlação negativa entre a *Exophiala* com os teores de K e Mg nos grãos de milho ($p < 0,01$).

Por fim, a correlação de Pearson entre a abundância relativa dos principais gêneros de FMA obtidos com o sequenciamento 28S, incluindo-se *Rhizophagus* (sinonímia de *Rhizoglosum*), foi significativa ($p < 0,01$) e positiva entre *Clareideoglosum*, a massa de cem grãos e os teores de N, P, Mg, e Mn dos grãos de milho, entre *Paradentisculata*, a massa de cem grãos e o teor de Mn nos grãos, e entre *Entrophospora* e o teor de Fe nos grãos (Figura 3.18). A abundância do gênero inoculado, *Rhizophagus* (sinonímia de *Rhizoglosum*), não se correlacionou com nenhum dos parâmetros de crescimento, produtividade e nutrição do milho.

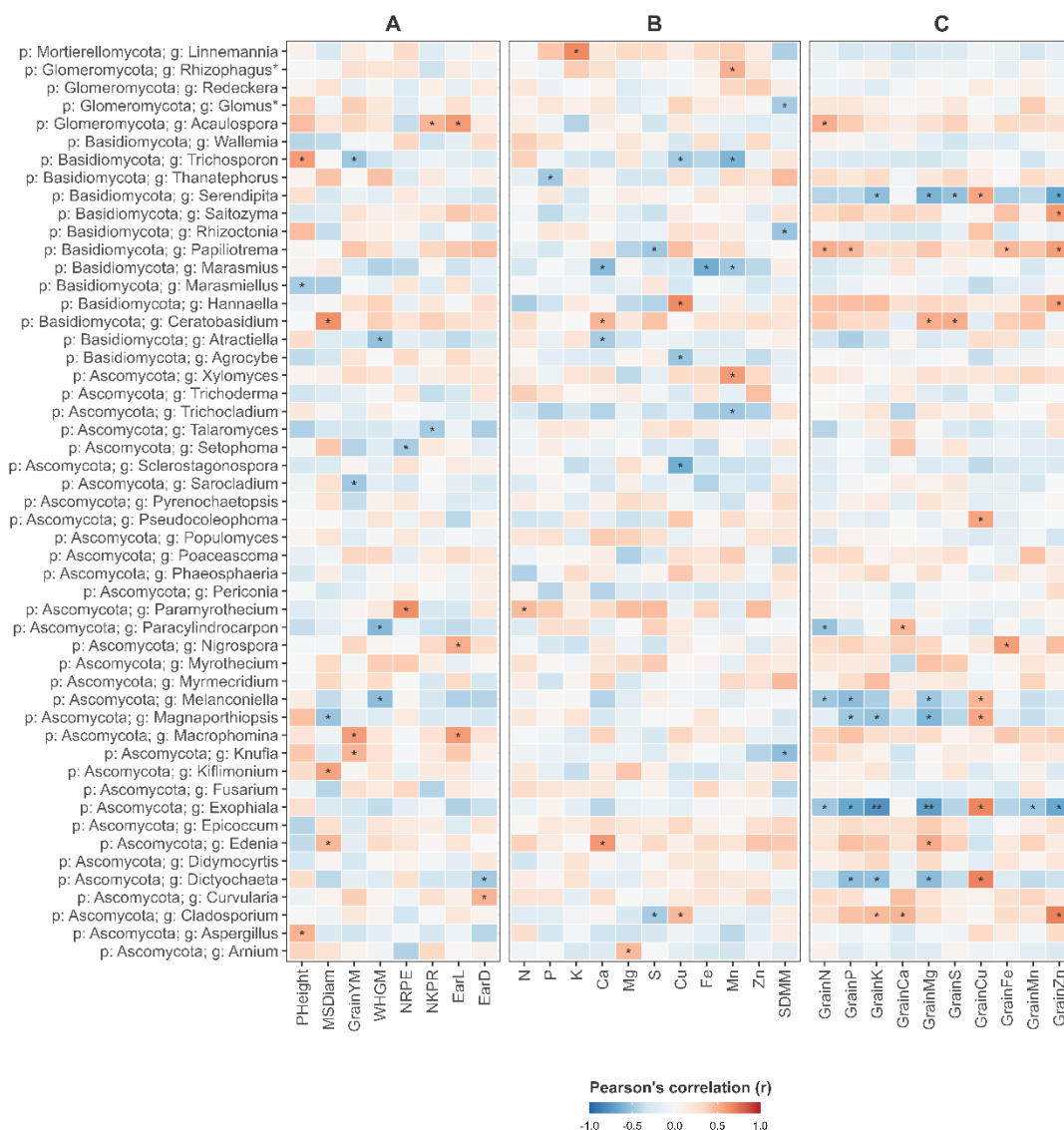
Figura 3.16 Correlação de Pearson entre os principais gêneros bacterianos encontrados nas raízes do milho, inclusive os gêneros inoculados *Nitrospirillum* e *Burkholderia* com os componentes de produção, produtividade, teores de nutrientes na parte aérea e nos grãos



Nota: * e **: significativo à 5% e 1%, respectivamente. PHeight, MSDiam, GrainYM, WHGM, NRPE, NKPR, EarL, EarD: altura de planta, diâmetro de colmo, produtividade, massa de cem grãos, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira, comprimento de espiga, diâmetro de espiga, respectivamente. N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn: teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco. SDMM: massa seca da parte aérea do milho. GrainN, GrainP, GrainK, GrainCa, GrainMg, GrainS, GrainCu, GrainFe, GrainMn, GrainZn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco nos grãos de milho.

Fonte: Dados do próprio autor.

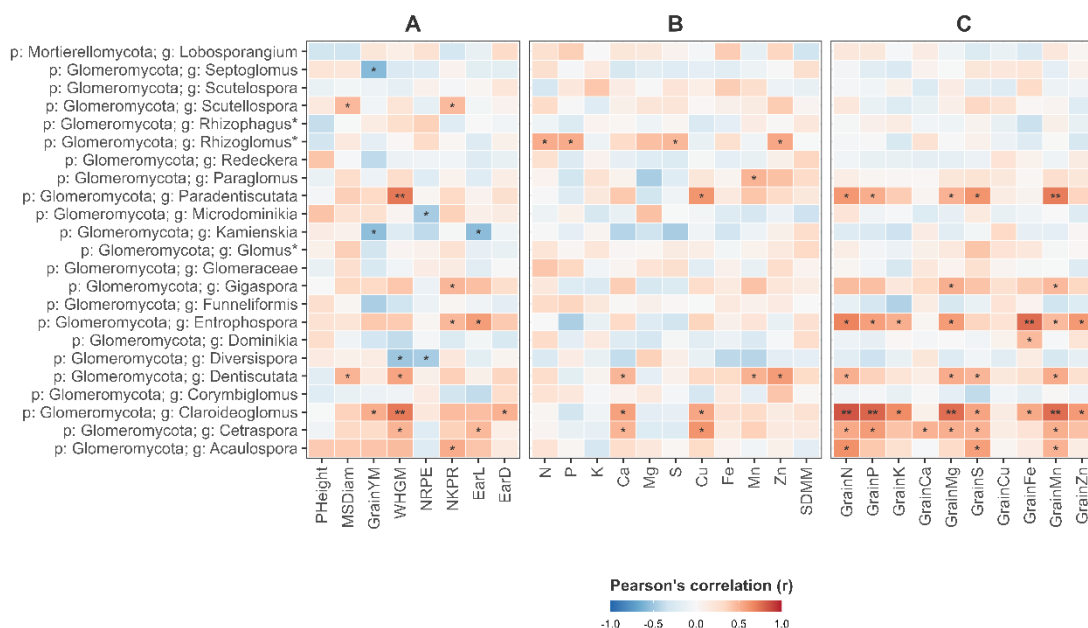
Figura 3.17 Correlação de Pearson entre os principais gêneros fúngicos encontrados nas raízes do milho com os componentes de produção, produtividade, teor de nutrientes na parte aérea e nos grãos



Nota: * e **: significativo à 5% e 1%, respectivamente. PHeight, MSDiam, GrainYM, WHGM, NRPE, NKPR, EarL, EarD: altura de planta, diâmetro de colmo, produtividade, massa de cem grãos, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira, comprimento de espiga, diâmetro de espiga, respectivamente. N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn: teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco. SDMM: massa seca da parte aérea do milho. GrainN, GrainP, GrainK, GrainCa, GrainMg, GrainS, GrainCu, GrainFe, GrainMn, GrainZn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco nos grãos de milho.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 3.18 Correlação de Pearson entre os principais gêneros de fungos micorrízicos arbusculares encontrados nas raízes do milho, inclusive o gênero inoculado *Rhizoglosum*, com os componentes de produção, produtividade, teor de nutrientes na parte aérea e nos grãos



Nota: * e **: significativo à 5% e 1%, respectivamente. PHeight, MSDiam, GrainYM, WHGM, NRPE, NKPR, EarL, EarD: altura de planta, diâmetro de colmo, produtividade, massa de cem grãos, número de fileiras por espiga, número de grãos por fileira, comprimento de espiga, diâmetro de espiga, respectivamente. N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn: teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco. SDMM: massa seca da parte aérea do milho. GrainN, GrainP, GrainK, GrainCa, GrainMg, GrainS, GrainCu, GrainFe, GrainMn, GrainZn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco nos grãos de milho.

Fonte: Dados do próprio autor.

3.4 DISCUSSÃO

O presente trabalho investigou os efeitos da inoculação combinada de diferentes BPCP com *R. clarum* sobre os aspectos fitotécnicos, a nutrição e a comunidade microbiana das raízes em milho irrigado em plantio direto no cerrado brasileiro por dois anos consecutivos.

Este estudo é pioneiro em avaliar como as combinações de BPCP e FMA inoculados influenciam as comunidades de bactérias e fungos das raízes de milho e, mais especificamente, a comunidade de FMA das raízes da cultura. Os resultados do presente estudo evidenciam que cada inoculação e cada coinoculação interage de maneira diferente com a cultura do milho, assim como no microbioma das suas raízes. Interessantemente, a modificação nas comunidades microbianas não foi verificada à nível de riqueza e a

diversidade, ao contrário do encontrado em alguns trabalhos (Berruti *et al.*, 2017; Janoušková *et al.*, 2017; Solís-Domínguez *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2018). Porém outros estudos demonstram que as comunidades microbianas nativas apresentam resiliência e estabilidade para se restabelecerem após intervenções de inoculação (Trabelsi; Mhamdi, 2013; Lourenço *et al.*, 2018; Allison; Martiny, 2008; Scherwinski *et al.*, 2008).

O efeito das inoculações nas comunidades microbianas das raízes foi majoritariamente à nível composicional. Isto é, as inoculações realizadas no presente trabalho modularam as espécies que as plantas recrutam para o interior das raízes e sua rizosfera, conforme demonstrado pela presença ou ausência de alguns microrganismos, resultando em mudanças nas funções bacterianas e fúngicas encontradas nas raízes. Isto pode ter um efeito indireto no desempenho das plantas, já que gêneros encontrados nas raízes do feijão se correlacionaram positivamente ou negativamente com parâmetros fitotécnicos e nutricionais. Por exemplo, a abundância relativa de *Proteus* e de *Phytobacter* estão correlacionados positivamente com o teor de N foliar e o teor de Cu nos grãos de milho, mas a abundância relativa do fungo *Exophiala*, que inclui fungos septados escuros (*dark septate endophytes*), com potenciais efeitos benéficos para algumas culturas, especialmente em condições de estresse abiótico (Xu *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2021b; Malicka *et al.*, 2022), se correlacionou negativamente com os teores de K e Mg nos grãos de milho. A abundância relativa de alguns FMA nativos também esteve correlacionada com parâmetros de produtividade e nutrição do milho, como *Clareideoglossum*, *Paradenitisculata* e *Entrophospora*. Portanto, alterações na abundância relativa destes gêneros por meio das inoculações com BPCP e/ou FMA, podem influenciar o crescimento e a nutrição das plantas de milho.

A inoculação de FMA na cultura do milho é prática recente na agricultura brasileira, com o registro do primeiro inoculante ocorrendo em 2018 (AGROLINK, 2018). Este trabalho utilizou *R. clarum* que, apesar de não ser um produto comercial, é também promissor, sendo relatados benefícios na cultura da soja (Oliveira *et al.*, 2022) e morango (Moradtalab *et al.*, 2019). Aliás, este estudo é um dos poucos a inocular um FMA em milho irrigado em uma área agrícola sob plantio direto (Schalamuk *et al.*, 2011) e provavelmente o primeiro a combiná-lo com outras BPCP oriundas de coleções brasileiras, além da *Az. brasilense*.

Na cultura de milho, a inoculação do FMA *R. clarum* de forma isolada durante dois anos consecutivos no mesmo local não alterou o crescimento das plantas, a produtividade e nutrição da cultura. Apenas quando combinado com alguma BPCP ocorreram

modificações nos parâmetros avaliados. Os efeitos benéficos da inoculação de FMA são amplamente demonstrados em experimentos de vasos (Zhang *et al.*, 2018; Lekberg; Koidé, 2005; Martin; Heijden, 2024), mas sua aplicação e campo é limitada, complexa e com resultados variáveis (Hoeksema *et al.*, 2010; Hart *et al.*, 2018; Lutz *et al.*, 2023). Por exemplo, Stoffel *et al.* (2020) notaram aumento da produtividade de milho com a inoculação de FMA, enquanto Buzo *et al.* (2023) não observaram alterações na produtividade do milho com a inoculação da mesma espécie de FMA.

A ausência de respostas mais expressivas das inoculações de FMA no presente estudo pode decorrer de vários fatores. Dentre eles, o fato de a maior parte dos híbridos modernos de milho possuírem menor dependência micorrízica, principalmente em solos sem limitação de P (Martín-Robles *et al.*, 2018). Além disso, a textura argilosa e a boa fertilidade do solo da área experimental foram relatadas como fatores de redução da colonização micorrízica em plantas (Pauwels *et al.*, 2023; Carrenho *et al.*, 2007; Shah *et al.*, 2021). Por fim, a adubação mineral realizada visando altas produtividades, principalmente com N e P₂O₅, também podem reduzir a dependência micorrízica das plantas (Alves *et al.*, 2021; Babalola *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2023; Saito *et al.*, 2011; Elbon; Whalen, 2014).

Juntamente disso, a comunidade microbiana do solo, especialmente a comunidade de FMA nativos, também pode ter sido capaz de estabelecer simbiose com a cultura, igualando os ganhos da simbiose nos tratamentos não inoculados com FMA. A presença de uma rica comunidade de FMA no solo provavelmente se deve ao manejo do sistema plantio direto na área, o que implica o não revolvimento do solo, conservando as hifas da comunidade de FMA nativos (Shah *et al.*, 2021; Bashan *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 2016; Hartman *et al.*, 2018; Heyde *et al.*, 2017), aumentando o carbono do solo e a estabilidade da comunidade microbiana em geral (Wang *et al.*, 2020; Semenov *et al.*, 2020). Além disso, ressalta-se que a própria espécie testada (*R. clarum*) foi verificada em plantas de parcelas não inoculadas com o FMA, indicando ocorrência nativa da mesma na área experimental.

A inoculação de FMA resultou em 151 gêneros bacterianos, 106 gêneros fúngicos e 2 gêneros de FMA exclusivos, que estavam ausentes nos tratamentos não inoculados com o *R. clarum*. Os gêneros bacterianos exclusivos de maior ocorrência foram *Planococcus*, *Thiobacillus*, *Fournierella* e *Sphingopyxis*. O gênero *Planococcus* é demonstrado como promotor de crescimento vegetal e de tolerância ao estresse salino (Rajput *et al.*, 2013). *Thiobacillus* é um gênero bacteriano oxidante de enxofre importante para

disponibilizar S em solos agrícolas (Ghaderi; Malakouti, 2018; Sayahi; Sour, 2019) e com efeito sinérgico relatado com o FMA *Funneliformis mosseae* em soja (Liu *et al.*, 2023a). Bactérias do gênero *Sphingopyxis* foram encontradas endofiticamente em folhas de *Oryza sativa* e com espécie produtora de AIA (Battu *et al.*, 2017; Dias *et al.*, 2009).

A análise funcional realizada com o FAPROTAX revelou uma predominância relativamente maior de táxons associados às funções de respiração utilizando fumarato comoceptor terminal de elétrons em plantas inoculadas apenas com o FMA. Como o fumarato é um ácido orgânico exsudado pelas raízes que está envolvido beneficiando a colonização da rizosfera por BPCP, o aumento nos táxons relacionados à respiração pelo uso de fumarato pode indicar que o tratamento inoculado com FMA modulou a comunidade bacteriana na rizosfera (Lecomte *et al.*, 2018). Dois gêneros exclusivos do tratamento com FMA são conhecidos por realizarem esse processo metabólico: *Shewanella* e *Geobacter* (Leys *et al.*, 1999; Shi *et al.*, 2022).

Os fungos exclusivos do tratamento com FMA de maiores ocorrências foram *Ge-minibasidium*, *Graphium* e *Phacidium*. O gênero *Graphium* pode ser endofítico de plantas, como o caso de *Graphium jumulu* em *Duroia macrophylla* (Silva *et al.*, 2020). O gênero *Phacidium* abriga espécies patogênicas de plantas, causando podridão da maçã e queima da neve em *Pinus* em regiões temperadas (Díaz *et al.*, 2019; Zerouki *et al.*, 2023), porém também foram encontrados como endofíticos em *Empetrum rubrum* (Ferreira *et al.*, 2021). A análise funcional (FUNGUILD) indicou aumento no número de sequências associadas aos processos de patogenicidade de insetos para a inoculação com FMA e dentre os gêneros exclusivos deste tratamento, *Metapochonia* é relatada como entomopatogênica (Deaver *et al.*, 2019).

O gênero do FMA *Scutellospora* foi exclusivo para o tratamento com *R. clarum*, sendo um gênero pouco estudado com a cultura do milho, mas que além de aumentar a absorção de P, é capaz de reduzir danos por nematoides do gênero *Meloidogyne* em plantas (Anjos *et al.*, 2010; Murugammal *et al.*, 2015). Curiosamente, este gênero apresentou correlação positiva com o teor foliar de K do milho. A presença do *R. clarum* ocorreu nas raízes de plantas inoculadas e não inoculadas com *R. clarum*, indicando a presença dessa espécie nativa no solo e competindo com o FMA inoculado. Apesar disso, a inoculação do FMA modificou a comunidade microbiana das raízes do milho, levando a alterações no desenvolvimento e nutrição das plantas (Li *et al.*, 2013; Janoušková *et al.*, 2017; Nogales *et al.*, 2021).

Dentre as BPCP inoculadas, *Az. brasilense* resultou em tímidos benefícios para a cultura, verificados com maior massa de cem grãos em 2021/22 em relação às outras inoculações e menor exportação de P nos grãos. Estudos anteriores demonstraram que a inoculação de *Az. brasilense* aumenta a produtividade do milho e permite redução de 25% na dose de N aplicada, incrementa o teor de N foliar e nos grãos, aumenta o crescimento da planta, o ICF, diâmetro do colmo, comprimento da espiga e a eficiência do uso do N (Hungria *et al.*, 2022; Barbosa *et al.*, 2022; Galindo *et al.* 2019). Por outro lado, outros trabalhos demonstram que a inoculação desta bactéria pode não beneficiar o crescimento, a nutrição e a produtividade da cultura do milho (Corsini, 2018; Santini *et al.*, 2018).

A coinoculação de *Az. brasilense* com *R. clarum* levou à maior diâmetro da espiga em 2021/22 e maior diâmetro do colmo, indicando efeito sinérgico dos microrganismos sobre o crescimento do milho. Outros estudos já demonstraram a sinergia entre *Az. brasilense* e FMA (Vázquez *et al.*, 2000; Ardakani *et al.*, 2011, Hernandez-Perez *et al.*, 2017; Kasanke *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2023b; Primieri *et al.*, 2022; Dobo, 2022).

A inoculação de *A. macrocytogenes* resultou em maior diâmetro do colmo, maior teor e exportação de Zn nos grãos em 2022/23 e maior exportação de P pelos grãos no mesmo ano. Por outro lado, causou menor massa de cem grãos em 2021/22. Esta espécie pertence à família *Azotobacteraceae* e caracteriza-se por fixar N em vida livre e produzir azoverdina, um sideróforo de complexação do ferro (Collinson *et al.*, 1990; New; Tchan, 1982; Grzyb *et al.*, 2021) que, para as plantas, pode melhorar a suplementação de Fe, suprimir fitopatógenos e mobilizar metais não ferrosos (Braud *et al.*, 2015). A maior parte das espécies do gênero *Azomonas* foi isolada de ambientes aquáticos, porém a espécie *A. macrocytogenes* foi isolada de solo (Becking, 1981). Apesar disso, não foram encontrados trabalhos de inoculação desta bactéria em milho, o que torna o presente trabalho o primeiro a testar a inoculação desta espécie em milho, resultando em promissória para a cultura do milho.

Outra espécie da família *Azotobacteraceae* utilizada neste trabalho, *Azot. beijerinckii* resultou em redução em diversos parâmetros avaliados, incluindo ICF, diâmetro de espiga, menor teor e exportação de Zn pelos grãos em 2022/23 e menor exportação de P pelos grãos em 2022/23. Esse gênero envolve bactérias que são fixadoras de N de vida livre, capaz de produzir fitormônios para promover maior crescimento de plantas e solubilizar de fosfato (Nehela *et al.*, 2021; Azcón e Barea, 1975; Jensen, 1951). Porém a literatura indica que se trata de uma espécie pouco frequente em solos ácidos (Jensen, 1965), como os solos de cerrado, e com efeitos de promoção de crescimento evidentes em solos

salinos (Chaudhary *et al.*, 2013). De fato, de acordo com Ninawe e Raj (2003), a FBN dessa espécie poderia ser ativa apenas em condições de salinidade entre 20-50%, indicando que talvez a promoção do crescimento pela inoculação desta bactéria seja dependente de maior salinidade do solo. Em outras condições, como a do presente experimento, a sua inoculação não seria recomendada por mostrar-se ligeiramente parasítica.

Isso contrasta com os resultados de inoculação desta bactéria nos testes em vasos do capítulo anterior, que foram benéficos. Isto indica que os resultados obtidos em experimentos conduzidos em vasos nem sempre podem ser diretamente extrapolados para condições de campo. Isso pode ser atribuído a diferenças significativas nas condições físicas, químicas e biológicas entre os dois ambientes, como volume limitado disponível para o desenvolvimento das raízes, e fatores ambientais como temperatura, umidade e dinâmica de nutrientes, que são mais variáveis e complexos no campo. Esses aspectos ressaltam a importância de validar os resultados de experimentos controlados em condições de campo para garantir sua aplicabilidade prática e relevância ecológica.

Quando houve inoculação de *B. amyloliquefaciens*, houve uma queda na massa de 100 grãos em 2021/22, menor exportação de P pelos grãos em 2022/23 e menor teor e exportação de Zn nos grãos na mesma safra. Esta bactéria e outras do mesmo gênero são muito estudadas e utilizadas na agricultura, sendo conhecidas suas capacidades de produzir auxinas e compostos orgânicos voláteis, solubilizar fosfato, produzir sideróforos e alterar a comunidade microbiana da rizosfera (Luo *et al.*, 2022). Com todos esses mecanismos, é comum encontrar benefícios da inoculação de *B. amyloliquefaciens* sobre o crescimento (Cui *et al.*, 2019) e produtividade (Milléo *et al.*, 2023) do milho. Porém, a ausência de benefícios pronunciados desta bactéria também tem sido observada em trabalhos prévios na cultura do milho (Silva *et al.* 2023) e na cultura do arroz (Correa, 2021), o que revela a importância do contexto agrônomo para obter um bom desempenho das inoculações.

A coinoculação de *R. clarum* e *B. amyloliquefaciens* resultou em maior diâmetro da espiga em 2021/22, maior teor de Zn nos grãos em 2022/23 e menor teor de Cu foliar. Isso indica que nas condições do presente estudo, esta combinação é capaz de suprimir os efeitos negativos da inoculação bacteriana e promover uma melhoria em vários parâmetros agrônômicos. A literatura indica que a inoculação de *B. amyloliquefaciens* beneficia indicadores de colonização micorrízica (Wilkes *et al.*, 2020) e que a combinação desta espécie com inoculante contendo três fungos micorrízicos arbusculares foi sinérgica para a cultura da soja (Sheteiwy *et al.*, 2021).

A inoculação com outra BPCP do mesmo gênero, *B. aryabhattai*, resultou em menor massa de cem grãos em relação à testemunha não inoculada com BPCP em 2021/22, e menor exportação de P e Zn pelos grãos em 2022/23. Porém houve maior teor de Zn no grão em 2022/23 com esta bactéria inoculada. Apesar de menos estudada, a espécie *B. aryabhattai* também promove o crescimento vegetal por mecanismos similares ao *B. amyloliquefaciens* como a solubilização do fosfato, fixação do N, produção de ácido abscísico, AIA, citocinina e ácido giberélico (Park *et al.*, 2017; Deng *et al.*, 2022). A BPCP também tem demonstrado reduzir os prejuízos de estresse hídrico na cultura do milho (EMBRAPA, 2021; Kavamura *et al.*, 2013). Isto contrasta com o presente estudo, no qual a bactéria isolada resultou em efeito negativo para vários parâmetros agrônômicos, exceto para o teor de Zn no grão. Ramesh *et al.* (2014) também verificaram que *B. aryabhattai* era capaz de solubilizar Zn, o que foi associado a um aumento do crescimento, rendimento e teor de zinco de soja e trigo. Os efeitos ligeiramente negativos desta inoculação sobre o milho no presente trabalho decorrem dos fatores que interferem na promoção de crescimento de plantas por bactérias associativas citados anteriormente ou de uma incompatibilidade entre a bactéria e o hospedeiro, já que esta cepa foi isolada de uma esponja marinha, *Mycale angulosa* (CBMAI, 2023).

Por outro lado, a coinoculação de *B. aryabhattai* com *R. clarum* resultou em maior diâmetro do colmo e da espiga (em 2021/22), além de maior teor de Cu foliar. Huang *et al.* (2023) também verificaram que a combinação desta bactéria com outro FMA resultou em melhor utilização de P orgânico e consequente maior teor de P em plantas de *Camellia oleífera*. Isto indica que para se obter benefícios desta inoculação sobre as plantas, é essencial combinar os dois microrganismos.

Nos casos das inoculações com *Az. brasilense*, *A. macrocytogenes*, *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens* e *B. aryabhattai*, a ausência de análises específicas das comunidades microbianas associadas às raízes dificulta determinar se o efeito observado resulta diretamente das inoculações realizadas ou de alterações induzidas na comunidade microbiana das raízes. Trabalhos futuros objetivando estudar estas comunidades em relação à melhora nos parâmetros de produção e nutrição da cultura do milho devem ser realizados.

No caso de *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense*, foi realizado estudo das comunidades microbianas das raízes, sendo estas duas inoculações selecionadas por terem se mostrado mais promissoras de acordo com os resultados do capítulo 1.

A inoculação apenas com *Bur. vietnamiensis* reduziu o diâmetro da espiga e a massa de cem grãos em 2021/22, o teor de Zn pelos grãos em 2022/23, e a exportação de P e Zn pelos grãos no mesmo ano. Somente com a coinoculação de *R. clarum* que o teor de Zn nos grãos se igualou e o teor de Cu foliar aumentou em relação à testemunha não inoculada com BPCP. Mesmo que não seja muito estudada em milho, a espécie *Bur. vietnamiensis* é conhecida por possuir diversos mecanismos de promoção de crescimento de plantas, como FBN, solubilização de fosfato, produção de auxinas e de ACC-deaminase (Govindarajan *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2010; Shinjo *et al.*, 2018; Aroumougame *et al.*, 2020; Baghel *et al.*, 2020). O gênero também foi relatado anteriormente como capaz de promover biocontrole de patógenos vegetais (Tagele *et al.*, 2019; Meng *et al.*, 2023).

Não foram encontrados estudos nos quais se demonstre um efeito negativo desta espécie no crescimento das plantas, mas o uso desta bactéria como inoculante na agricultura é desestimulado por ela fazer parte do complexo *Bur. cepacia* (BCC), que contém espécies de patógenos animais e humanos (Suárez-Moreno *et al.*, 2012).

A inoculação de *Bur. vietnamiensis* resultou em 106 gêneros bacterianos, 89 gêneros fúngicos e um gênero de FMA exclusivos, que estavam ausentes nos tratamentos não inoculado e inoculado com *N. amazonense*. Os gêneros bacterianos exclusivos de maior ocorrência foram *Rurimicrobium*, *Cystobacter*, *Testudinibacter*. O primeiro gênero, *Rurimicrobium*, abriga bactérias quitinolíticas encontradas naturalmente nos solos e em plantas (Dahal *et al.*, 2017; Mannaa *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2023). O gênero do grupo das mixobactérias, *Cystobacter*, é conhecido por ser encontrado no solo, plantas em decomposição e na rizosfera, além de produzir substâncias com atividade antibacteriana (Saadatpour *et al.*, 2020). A análise funcional (FAPROTAX) revelou uma predominância relativa de funções associadas à metanogênese, decorrente da presença do gênero metanogênico *Methanobrevibacter* exclusivamente nas raízes de milho inoculadas com *Bur. vietnamiensis*. Esse gênero ocorre em material vegetal, mas também é encontrado no trato intestinal de ruminantes, lodo anaeróbico de estações de tratamento de águas residuais e intestino de cupins (Ufnar *et al.*, 2006). Curiosamente, a inoculação com *Bur. vietnamiensis* também resultou em um gênero metanotrófico exclusivo, *Methylocaldum* (Eshinimaev *et al.*, 2004).

Os fungos exclusivos do tratamento com *Bur. vietnamiensis* de maiores ocorrências foram *Geminibasidium*, *Rectifusarium*, *Phacidium* e *Parasola*. Como dito anteriormente, o gênero *Phacidium* abriga espécies patogênicas de plantas e foi encontrado endofiticamente em *Empetrum rubrum* (Díaz *et al.*, 2019; Zerouki *et al.*, 2023; Ferreira *et*

al., 2021). O gênero *Parasola* é conhecidamente saprófito (Pošta *et al.*, 2023) e encontrado em esterco (Schafer, 2014), estando relacionado com o aumento de táxons associados à função de saprófitos de esterco neste tratamento (FUNGUILD). Não houveram gêneros de FMA exclusivos para o tratamento com esta bactéria.

Com a inoculação de *N. amazonense*, houve menor ICF em relação à testemunha não inoculada com BPCP, colonização radicular por micorrizas menor que o tratamento com *Bur. vietnamiensis* em 2021/22, menor massa de cem grãos em 2021/22, maior teor de Zn no grão quando não combinado com FMA em 2022/23, além de maior exportação de P e Zn em 2022/23. Quando a bactéria foi coinoculada com *R. clarum*, houve maior diâmetro da espiga em 2021/22, menor teor de Cu foliar, e menor teor de Zn no grão em 2022/23. A espécie *N. amazonense* é conhecida pelos seus efeitos de promoção vegetal em associação com as plantas, com destaque para a FBN, produção de sideróforos e auxinas (Schwab *et al.*, 2018), sendo relatada como melhor adaptada à acidez do solo do que *Az. brasilense* (Magalhães *et al.*, 1983), capazes de realizar FBN na presença de N acima do limite de inibição de *Az. brasilense* (Hartmann *et al.*, 1986) e como uma espécie não desnitrificante (Kloos *et al.*, 2001).

A literatura indica que a inoculação de *N. amazonense* aumentou o crescimento e a produtividade da cana de açúcar (Reis *et al.*, 2020) e do arroz irrigado por inundação em vasos (Rodrigues *et al.*, 2008). Porém nesse mesmo trabalho, foi verificado redução no crescimento de arroz em condições gnotobióticas e sem solo devido ao excesso de auxinas produzidas pela bactéria. Sica *et al.* (2020) também observaram incrementos na produtividade da cana-de-açúcar após uso do inoculante comercial Aprinza® contendo *N. amazonense*, porém sem verificar aumento nos teores de nutrientes foliares e de colmos. Por outro lado, ao trabalhar com arroz de terras altas irrigado por aspersão na mesma região do presente trabalho, Rodrigues (2024) também não obteve resultados para as inoculações de *N. amazonense*. Dessa forma, este é o primeiro trabalho a relatar como inoculação de *N. amazonense* em milho irrigado em condições de cerrado, coinoculado ou não com FMA, influencia o crescimento, produtividade e nutrição da cultura.

As plantas inoculadas com *N. amazonense* apresentaram 110 gêneros bacterianos exclusivos, sobressaindo-se *Eisenbergiella*, *Thiobacillus* e *Pseudoxanthobacter*. Como visto anteriormente, *Thiobacillus* é um gênero bacteriano envolvido com o ciclo do S nos solos e com relatado efeito sinérgico com *Funneliformis mosseae* (Ghaderi e Malakouti, 2018; Sayahi e Sour, 2019; Liu *et al.*, 2023a), que realiza oxidação do tiosulfato (Charles, 1969), corroborando o maior número de sequências associadas a essa função

(FAPROTAX). Por outro lado, o gênero *Pseudoxanthobacter* possui espécies fixadoras de N (Arun *et al.*, 2008), o que pode ter contribuído em conjunto a alguns dos efeitos benéficos observados nas plantas.

Quanto aos fungos, a inoculação com *N. amazonense* resultou em 54 gêneros exclusivos, com predomínio de *Anthostomella*, *Aaosphaeria* e *Neomassarina*. O primeiro gênero, *Anthostomella*, é relatado como saprófito e também endofítico de plantas (Durán-López *et al.*, 2019; Amorim *et al.*, 2016). Não foram encontrados gêneros de FMA exclusivos para esta inoculação.

É fato que as BPCP são multifuncionais quanto aos mecanismos promotores de crescimento de plantas, sendo que a soma desses fatores é que resultará nos benefícios perceptíveis nas culturas agrícolas, conforme a Hipótese dos Mecanismos Múltiplos (Bashan e de-Bashan, 2010). Mas apesar dos múltiplos mecanismos de promoção de crescimento de plantas de cada bactéria inoculada, foram verificados tímidos benefícios das inoculações neste estudo. Isso também é apoiado pela literatura, por exemplo, Skonieski *et al.* (2019) não observaram efeitos da inoculação de *Az. brasilense* em um dos híbridos de milho utilizados em seu estudo. Ao trabalhar com arroz de terras altas irrigado por aspersão no cerrado, Rodrigues (2024) também não obteve resultados para as inoculações de *N. amazonense* e *B. aryabhattai*.

Essas variações de resultados se justificam pela complexidade das relações associativas entre plantas e bactérias, que depende da interação entre o genótipo da planta e da bactéria inoculada com as características do solo (Ramírez; Kloepper, 2010), o clima (Lopes *et al.*, 2021), o manejo da área e a competição com a comunidade microbiana nativa naquele solo (Rilling *et al.*, 2019). A forma como os microrganismos inoculados interferem sobre a comunidade microbiana nativa e recrutada pelas plantas também é crucial para se entender os resultados das inoculações sobre as culturas agrícolas. Isso porque a comunidade microbiana associada à raiz da planta é determinante do seu desempenho (Saleem *et al.*, 2019; Qu *et al.*, 2020), então mudanças nos microrganismos recrutados podem modificar o desenvolvimento das plantas (Santos e Olivares, 2021; Trivedi *et al.*, 2020; Rigobelo *et al.*, 2024).

Diante dos resultados deste trabalho, fica claro que novos estudos devem ser realizados para verificar como as condições de manejo e de solo podem interferir na expressão dos benefícios de promoção de crescimento das inoculações em gramíneas, com destaque para o milho. E ainda como as coinoculações de BPCP e FMA podem interagir para oferecer as combinações com melhores sinergismos para os agricultores.

3.5 CONCLUSÃO

Os benefícios das inoculações observados em estudos anteriores em condições de casa de vegetação não se repetiram para o milho cultivado em condições de campo. Isoladamente, as inoculações em campo apresentaram pouco ou nenhum efeito sobre parâmetros fitotécnicos e de produtividade do milho, havendo redução no componente de produção massa de cem grãos após as inoculações de *A. macrocytogenes*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai*, *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense*. Por outro lado, a exportação de P foi reduzida com as inoculações de *Az. brasilense*, *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis*, enquanto a exportação de Zn foi maior após as inoculações de *A. macrocytogenes* e *N. amazonense*. Em relação ao FMA, os seus efeitos foram discretos quando inoculado na ausência de BPCP, apenas se verificou que, nutricionalmente, a sua inoculação aumentou o teor de Cu foliar.

Porém, parte das inoculações bacterianas se revelaram positivas ao serem co-inoculadas com FMA, evidenciado pelo maior diâmetro de colmo e diâmetro de espiga nas coinoculações de *Az. brasilense* e *B. aryabhattai* com *R. clarum*. Isto demonstra que a coinoculação dessas bactérias com um FMA adequado pode beneficiar a cultura do milho, tornando os inóculos mistos (FMA + bactéria) mais eficazes que os inóculos bacterianos isolados.

Adicionalmente, verificou-se que as inoculações analisadas promoveram mudanças na composição taxonômica de microrganismos recrutados pelas raízes, sem influenciar a diversidade microbiana. Isso foi constatado pelo o aparecimento de gêneros exclusivos de baixa frequência nas raízes de plantas inoculadas. Além disso, os gêneros inoculados foram encontrados nas raízes mesmo no tratamento testemunha, indicando ocorrência nativa no solo.

Por fim, é recomendado coinocular *Az. brasilense* com *R. clarum* no milho para promover maior desenvolvimento vegetativo das plantas, devido à sinergia entre ambos. No entanto, são necessários novos estudos para esclarecer como as inoculações combinadas influenciam a modulação do microbioma radicular do milho em diferentes tipos de solo e condições edafoclimáticas, bem como para avaliar a estabilidade dessas alterações ao longo do tempo e identificar as condições ambientais mais favoráveis para a inoculação em campo.

REFERÊNCIAS

- ABARENKOV, K.; ZIRK, A.; PIIRMANN, T.; PÖHÖNEN, R.; IVANOV, F.; NILSSON, R. H.; KÖLJALG, U. Full UNITE+INSD dataset for Fungi. UNITE Community. 2023.
- AGROCERES. Bayer. **AG7098**: informações do produto. Informações do Produto. 2024. Disponível em: <https://sementesagrocere.app/pt/catalog/corn/agroceres/5/1098/catalog/>. Acesso em: 09 jul. 2024.
- AGROLINK. **NovaTero é a primeira empresa do Brasil a obter registro do MAPA para comercialização de inoculante**. 2018. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/novatero-e-a-primeira-empresa-do-brasil-a-obter-registro-do-mapa-para-comercializacao-de-inoculante_407115.html. Acesso em: 23 nov. 2024.
- ALLISON, S. D.; MARTINY, J. B. H. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 105, p. 11512-11519, 2008.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; MORAES, G.; LEONARDO, J.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ALVES, G. C.; SANTOS, C. L.; ZILLI, J. E.; FABIO, B.; MARRIEL, I. E.; BREDAS, F. A. D. F.; BODDEY, R. M. Agronomic evaluation of *Herbaspirillum seropedicae* strain ZAE94 as an inoculant to improve maize yield in Brazil. **Pedosphere**, Beijing, v. 31, n. 4, p. 583-595, 2021.
- AMORIM, M. R. D.; SOMENSI, A.; ARAUJO, A. R.; BONIFÁCIO, B. V.; BAUAB, T. M.; SANTOS, L. C. D. Compounds of *Anthostomella brabeji*, an endophytic fungus isolated from *Paepalanthus planifolius* (Eriocaulaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 27, p. 1048-1054, 2016.
- ANDERSEN, K. S.; KIRKEGAARD, R. H.; KARST, S. M.; ALBERTSEN, M. ampvis2: An R package to analyse and visualise 16S rRNA amplicon data. **bioRxiv**, 2018.
- ANDREWS, S. **FastQC**: a quality control tool for high throughput sequence data. Babraham Bioinformatics, Babraham Institute, Cambridge, United Kingdom, 2010.
- ANJOS, É. C. T. D.; CAVALCANTE, U. M. T.; GONÇALVES, D. M. C.; PEDROSA, E. M. R.; SANTOS, V. F. D.; MAIA, L. C. Interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus (*Scutellospora heterogama*) and the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on sweet passion fruit (*Passiflora alata*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, p. 801-809, 2010.

ARDAKANI, M. R.; 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 and Molecular Biology of Plants**, New Delhi, v. 17, p. 181-192, 2011.

AROUMOUGAME, S.; GEETHA, T. M.; THANGARAJU, M. Exploitation of PGPR endophytic *Burkholderia* isolates to enhance organic agriculture. **American Journal of BioScience**, New York, v. 8, n. 3, p. 57-64, 2020.

ARUN, A. B.; SCHUMANN, P.; CHU, H. I.; TAN, C. C.; CHEN, W. M.; LAI, W. A.; KÄMPFER, P.; SHEN, F.-T.; REKHA, P. D.; HUNG, M.-H.; CHOU, J.-H.; YOUNG, C. C. *Pseudoxanthobacter soli* gen. nov., sp. nov., a nitrogen-fixing alphaproteobacterium isolated from soil. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, New York, v. 58, n. 7, p. 1571-1575, 2008.

AZCÓN, R.; BAREA, J. M. Synthesis of auxins, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter beijerinckii* related to effects produced on tomato plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 43, p. 609-619, 1975.

BAGHEL, V.; THAKUR, J. K.; YADAV, S. S.; MANNA, M. C.; MANDAL, A.; SHIRALE, A. O.; PATRA, A. K. Phosphorus and potassium solubilization from rock minerals by endophytic *Burkholderia* sp. strain FDN2-1 in soil and shift in diversity of bacterial endophytes of corn root tissue with crop growth stage. **Geomicrobiology Journal**, New York, v. 37, n. 6, p. 550-563, 2020.

BARBOSA, J. Z.; ROBERTO, L. A.; HUNGRIA, M.; CORRÊA, R. S.; MAGRI, E.; CORREIA, T. D. Meta-analysis of maize responses to *Azospirillum brasilense* inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 170, 104276, 2022.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth - a critical assessment. **Advances in Agronomy**, Maryland Heights, v. 108, p. 77-136, 2010.

BASHAN, Y.; PUENTE, M. E.; RODRIGUEZ-MENDOZA, M. N.; TOLEDO, G.; HOLGUIN, G.; FERRERA-CERRATO, R.; PEDRIN, S. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 61, n. 5, p. 1938-1945, 1995.

BATTU, L.; REDDY, M. M.; GOUD, B. S.; ULAGANATHAN, K.; KANDASAMY, U. Genome inside genome: NGS based identification and assembly of endophytic *Sphingopyxis granuli* and *Pseudomonas aeruginosa* genomes from rice genomic reads. **Genomics**, Waltham, v. 109, p. 141-146, 2017.

BECKING, J. H. The family Azotobacteraceae. In: STARR, M. P.; STOLP, H.; TRUPER, H. G.; BALOWS, A.; SCHLEGEL, H. G. **The prokaryotes: a handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria**. Berlin: Springer, 1981. p. 795-817.

BERRIOS, L.; RENTSCH, J. D. Linking reactive oxygen species (ROS) to abiotic and biotic feedbacks in plant microbiomes: the dose makes the poison. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 23, 4402, 2022.

BERRUTI, A.; LUMINI, E.; BIANCIOTTO, V. AMF components from a microbial inoculum fail to colonize roots and lack soil persistence in an arable maize field. **Symbiosis**, Dordrecht, v. 72, n. 1, p. 73-80, 2017.

BRASIL. Decreto n.º 10.375, de 26 de abril de 2020. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. Diário Oficial da União, Brasília, 27 maio 2020. Seção 1, p. 105. 2020.

BRAUD, A. M.; HUBERT, M.; GAUDIN, P.; LEBEAU, T. A quick rhizobacterial selection tests for the remediation of copper contaminated soils. **Journal of Applied Microbiology**, Chichester, v. 119, n. 2, p. 435-445, 2015.

BUZO, F. S.; GARÉ, L. M.; GARCIA, N. F. S.; SILVA, M. S. R. A.; MARTINS, J. T.; SILVA, P. H. G.; MEIRELES, F. C.; SALES, L. Z. S.; NOGALES, A.; RIGOBELLO, E. C.; ARF, O. Effect of mycorrhizae on phosphate fertilization efficiency and maize growth under field conditions. **Scientific Reports**, London, v. 13, n. 1, p. 3527, 2023.

ÇAKMAKÇI, R.; MOSBER, G.; MILTON, A. H.; ALATÜRK, F.; ALI, B. The effect of auxin and auxin-producing bacteria on the growth, essential oil yield, and composition in medicinal and aromatic plants. **Current Microbiology**, New York, v. 77, p. 564-577, 2020.

CALLAHAN, B. J.; MCMURDIE, P. J.; ROSEN, M. J.; HAN, A. W.; JOHNSON, A. J. A.; HOLMES, S. P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, London, v. 13, n. 7, 581, 2016.

CARRENHO, R.; TRUFEM, S. F. B.; BONONI, V. L. R.; SILVA, E. S. The effect of different soil properties on arbuscular mycorrhizal colonization of peanuts, sorghum and maize. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 21, p. 723-730, 2007.

CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G.; MOLINA, R.; NIEVAS, S.; CARLAN, C. L. N.; DONADIO, F.; TORRES, D.; ROSAS, S.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E.; ZORITA, M. D.; DE-BASHAN, L.; MORA, V. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 56, p. 461-479, 2020.

CBMAI - Coleção Brasileira de Micro-organismos de Ambiente e Indústria. **Acervo**. 2023. Disponível em: <https://specieslink.net/col/CBMAI/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

CHARLES, A. M. Mechanism of thiosulfate oxidation by *Thiobacillus intermedius*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Maryland Heights, v. 129, n. 1, p. 124-130, 1969.

CHAUDHARY, D.; NARULA, N.; SINDHU, S. S.; BEHL, R. K. Plant growth stimulation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by inoculation of salinity tolerant *Azotobacter* strains. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, New Delhi, v. 19, p. 515-519, 2013.

CHEN, S.; ZHOU, Y.; CHEN, Y.; GU, J. fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. **Bioinformatics**, Oxford, v. 34, n. 17, p. i884–i890, 2018.

COLE, J. R.; WANG, Q.; FISH, J. A.; CHAI, B.; MCGARRELL, D. M.; SUN, Y.; BROWN, C. T.; PORRAS-ALFARO, A.; KUSKE, C. R.; TIEDJE, J. M. Ribosomal Database Project: Data and tools for high throughput rRNA analysis. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 42, p. D633–D642, 2014.

COLLINSON, S. K.; ABDALLAH, M. A.; PAGE, W. J. Temperature-sensitive production of azoverdin, the pyoverdin-like siderophore of *Azomonas macrocytogenes* ATCC 12334. **Microbiology**, London, v. 136, n. 11, p. 2297-2305, 1990.

CORREA, J. B. **Efeito da aplicação de *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus subtilis* em arroz de terras altas irrigado por aspersão**. Orientador: Orivaldo Arf. 2021. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2021.

CORSINI, D. C. D. C. **Coberturas vegetais e modos de inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho sobre três sistemas de preparo de solo**. Orientador: Orivaldo Arf. 2018. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2018.

COSTA, M. K. L.; CARVALHO JR, G. M.; SILVA, J. M.; MATOS FILHO, C. H. A.; PUERARI, H. H.; BONIFÁCIO, A.; LOPES, A. C. A.; ALCANTARA NETO, F.; ARAUJO, F. F.; ARAUJO, A. S. F. A *Bacillus subtilis* strain mitigates the root-lesion nematode *Pratylenchus* in a field study with maize and lima bean. **Rhizosphere**, Amsterdam, v. 27, 100766, 2023.

CUI, W.; HE, P.; MUNIR, S.; HE, P.; LI, X.; LI, Y.; WU, J.; WU, Y.; YANG, L.; HE, P.; HE, Y. Efficacy of plant growth promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* B9601-Y2 for biocontrol of southern corn leaf blight. **Biological Control**, New York, v. 139, 104080, 2019.

DAHAL, R. H.; CHAUDHARY, D. K.; KIM, J. *Rurimicrobium arvi* gen. nov., sp. nov., a member of the family Chitinophagaceae isolated from farmland soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 67, n. 12, p. 5235-5243, 2017.

DEAVER, N. R.; HESSE, C.; KUSKE, C. R.; PORRAS-ALFARO, A. Presence and distribution of insect-associated and entomopathogenic fungi in a temperate pine forest soil: An integrated approach. **Fungal biology**, London, v. 123, n. 12, p. 864-874, 2019.

DELAVAUX, C. S.; SMITH-RAMESH, L. M.; KUEBBING, S. E. Beyond nutrients: a meta-analysis of the diverse effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plants and soils. **Ecology**, Hoboken, v. 98, n. 8, p. 2111-2119, 2017.

DENG, C.; ZHANG, N.; LIANG, X.; HUANG, T.; LI, B. *Bacillus aryabhattai* LAD impacts rhizosphere bacterial community structure and promotes maize plant growth. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 102, n. 14, p. 6650-6657, 2022.

DIAS, A. C. F.; COSTA, F. E. C.; ANDREOTE, F. D.; LACAVA, P. T.; TEIXEIRA, M. A.; ASSUMPÇÃO, L. C.; ARAÚJO, W. L.; AZEVEDO, J. L.; MELO, I. S. Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 25, p. 189-195, 2009.

DÍAZ, G. A.; LATORRE, B. A.; FERRADA, E.; LOLAS, M. Identification and characterization of *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Phacidiopycnis washingtonensis* and *Phacidium lacerum* obtained from apple (*Malus x domestica*) fruit rot in Maule Region, Chile. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 153, p. 1259-1273, 2019.

DIDION, J. P.; MARTIN, M.; COLLINS, F. S. Atropos: Specific, sensitive, and speedy trimming of sequencing reads. **PeerJ**, London, v. 5, e3720, 2017.

DOBO, B. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and rhizobium inoculation on growth and yield of *Glycine max* L. varieties. **International Journal of Agronomy**, London, v. 2022, 9520091, 2022.

DURÁN-LÓPEZ, M. E.; CAROCA-CÁCERES, R.; JAHREIS, K.; NARVÁEZ-VERA, M.; ANSALONI, R.; CAZAR, M. E. The micorrryzal fungi *Ceratobasidium* sp. and *Sebacina vermifera* promote seed germination and seedling development of the terrestrial orchid *Epidendrum secundum* Jacq. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 125, p. 54-61, 2019.

EDGAR, R. **Usearch**. Lawrence Berkeley National Lab. (LBNL), Berkeley, CA (United States), 2010.

ELBON, A.; WHALEN, J. K. Phosphorus supply to vegetable crops from arbuscular mycorrhizal fungi: a review. **Biological Agriculture & Horticulture**, Abingdon, v. 31, n. 2, p. 73–90, 2014.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, **List of bacterial type strains available for distribution at CRB-JD**. Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner, EMBRAPA Agrobiologia, Seropédica/RJ, 2014, 38 p.

EMBRAPA. **Bactéria encontrada no mandacaru vira bioproduto que promove tolerância à seca em plantas**. Brasília, DF, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/60941801/bacteria-encontrada-no-mandacaru-vira-bioproduto-que-promove-tolerancia-a-seca-em--plantas>. Acesso em: 7 mar. 2022.

EMMANUEL, O. C.; BABALOLA, O. O. Productivity and quality of horticultural crops through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. **Microbiological Research**, Muenchen, v. 239, 126569, 2020.

ERENSTEIN, O.; JALETA, M.; SONDER, K.; MOTTALEB, K.; PRASANNA, B.M. Global maize production, consumption and trade: trends and R&D implications. **Food Security**, Dordrecht, v. 14, p. 1295-1319, 2022.

ESHINIMAEV, B. T.; MEDVEDKOVA, K. A.; KHMELLENINA, V. N.; SUZINA, N. E.; OSIPOV, G. A.; LYSENKO, A. M.; TROTSSENKO, Y. A. New thermophilic

methanotrophs of the genus *Methylocaldum*. **Microbiology**, London, v. 73, n. 4, p. 448-456, 2004.

FAOSTAT - 2022. Database: Production: Crops and livestock products. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em 14 out. 2024.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERREIRA, M. C.; LOUREIRO, P. H. R.; ASSIS, J. C. S.; CARVALHO-SILVA, M.; CÂMARA, P. E. A. S.; HENRIQUES, D. K.; ROSA, L. H. Diversity of Endophytic fungi of *Empetrum rubrum* Vahl ex Willd (Ericaceae): a medicinal plant from austral South America. In: Rosa, L.H. (ed.). **Neotropical Endophytic Fungi**. Cham, Suíça: Springer, 2021. p. 375-385.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; PAGLIARI, P. H.; SANTINI, J. M.; ALVES, C. J.; MEGDA, M. M.; NOGUEIRA, T. A. R.; ANDREOTTI, M.; ARF, O. Maize yield response to nitrogen rates and sources associated with *Azospirillum brasilense*. **Agronomy Journal**, Madison, v. 111, n. 4, p. 1985-1997, 2019.

GHADERI, J.; MALAKOUTI, M. J. Effect of elemental sulfur and *Thiobacillus* bacteria on some chemical properties of soil and nutrients uptake by maize (*Zea mays* L.) crop. **Applied Soil Research**, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 131-142, 2018.

GOVINDARAJAN, M.; BALANDREAU, J.; KWON, S. W.; WEON, H. Y.; LAKSHMINARASIMHAN, C. Effects of the inoculation of *Burkholderia vietnamensis* and related endophytic diazotrophic bacteria on grain yield of rice. **Microbial Ecology**, New York, v. 55, p. 21-37, 2008.

GRZYB, A.; WOLNA-MARUWKA, A.; NIEWIADOMSKA, A. The significance of microbial transformation of nitrogen compounds in the light of integrated crop management. **Agronomy**, Madison, v. 11, n. 7, 1415, 2021.

HART, M. M.; ANTUNES, P. M.; CHAUDHARY, V. B.; ABBOTT, L. K. Fungal inoculants in the field: Is the reward greater than the risk? **Functional Ecology**, Chichester, v. 32, n. 1, p. 126–135, 2018.

HARTMAN, K.; HEIJDEN, M. G. A.; WITTEWER, R. A.; BANERJEE, S.; WALSER, J. C.; SCHLAEPPI, K. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. **Microbiome**, London, v. 6, n. 14, 2018.

HARTMANN, A.; FU, H.; BURRIS, R. H. Regulation of nitrogenase activity by ammonium chloride in *Azospirillum* spp. **Journal of bacteriology**, Washington, v. 165, p. 864-870, 1986.

HASSANI, M. A.; GONZALEZ, O.; HUNTER, S. S.; HOLMES, G. J.; HEWAV-ITHARANA, S. S.; IVORS, K.; LAZCANO, C. Microbiome network connectivity and composition linked to disease resistance in strawberry plants. **Phytobiomes Journal**, St. Paul, v. 7, p. 298-311, 2023.

HERNANDEZ-PEREZ, A.; VALDÉS-AGUILAR, L. A.; CARDENAS-FLORES, A.; IBARRA-JIMENEZ, L.; MÉNDEZ-ARGÜELLO, B. Photosynthesis, growth and yield of *Solanum lycopersicum* as influenced by the use of microbial biofertilizers. **Agrochimica: International Journal of Plant Chemistry, Soil Science and Plant Nutrition of the University of Pisa**, v. 61, n. 2, p. 95-109, 2017.

HEYDE, M.; OHSOWSKI, B.; ABBOTT, L. K.; HART, M. Arbuscular mycorrhizal fungus responses to disturbance are context-dependent. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 27, p. 431-440, 2017.

HOEKSEMA, J. D.; CHAUDHARY, C. V.; GEHRING, C. A.; JOHNSON, N. C.; KARST, J.; KOIDE, R. T.; PRINGLE, A.; ZABINSKI, C.; BEVER, J. D.; MOORE, J. C.; WILSON, G. W. T.; KLIRONOMOS, J. N.; UMBANHOWAR, J. A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. **Ecology Letters**, Chichester, v. 13, p. 394-407, 2010.

HUANG, Y.; LIN, Y.; ZHANG, L.; WU, F.; ZHANG, Y.; HUANG, S. Effects of Interaction between *Claroideogolmus etuicatum* and *Bacillus aryabhattai* on the Utilization of Organic Phosphorus in *Camellia oleifera* Abel. **Journal of Fungi**, Basel, v. 9, n. 10, 977, 2023.

HUNGRIA, M.; BARBOSA, J. Z.; RONDINA, A. B. L.; NOGUEIRA, M. A. Improving maize sustainability with partial replacement of N fertilizers by inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Agronomy Journal**, Madison, v. 114, n. 5, p. 2969-2980, 2022.

IGIEHON, N. O.; BABALOLA, O. O. Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied microbiology and biotechnology**, Heidelberg, v. 101, n. 12, p. 4871-4881, 2017.

IJDO, M.; CRANENBROUCK, S.; DECLERCK, S. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 21, p. 1-16, 2011.

JANOUSHKOVÁ, M.; KRAK, K.; VOSÁTKA, M.; PÜSCHEL, D.; ŠTORCHOVÁ, H. Inoculation effects on root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities spread beyond directly inoculated plants. **PLoS One**, San Francisco, v. 12, n. 7, e0181525, 2017.

JAUDÉ, R. A.; LUZIATELLI, F.; FICCA, A. G.; RUZZI, M. A plant's perception of growth-promoting bacteria and their metabolites. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 14, 1332864, 2024.

JENSEN, H. L. Non-symbiotic nitrogen fixation. In: BARTHOLOMEW, W. V.; CLARK, F. E. (ed.). **Soil nitrogen**. 3. ed. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p.436-80.

JENSEN, H. L. Notes on the biology of *Azotobacter*. **Proceedings of the Society for Applied Bacteriology**, Chichester, v. 14, n. 1, p. 89-94, 1951.

KASANKE, S. A.; CHEEKE, T. E.; MORAN, J. J.; ROLEY, S. S. Tripartite interactions among free-living, N-fixing bacteria, arbuscular mycorrhizal fungi, and plants: Mutualistic benefits and community response to co-inoculation. **Soil Science Society of America Journal**, Hoboken, v. 88, p. 1000-1013, 2024.

KAVAMURA, V.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. L.; PARMA, M. M.; AVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, T. D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. de. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Research**, Muenchen, v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013.

KLOOS, K.; MERGEL, A.; ROSCH, C.; BOTHE, H. Denitrification within the genus *Azospirillum* and other associative bacteria. **Australian Journal of Plant Physiology**, Clayton, v. 28, n. 9, p. 991-998, 2001.

LAHTI, L.; SHETTY, S. **Microbiome R package**. 2012.

LECOMTE, S. M.; ACHOUAK, W.; ABROUK, D.; HEULIN, T.; NESME, X.; HAICHAR, F. E. Z. Diversifying anaerobic respiration strategies to compete in the rhizosphere. **Frontiers in Environmental Science**, Lausanne, v. 6, 139, 2018.

LEKBERG, Y.; KOIDE, R. T. Is plant performance limited by abundance of arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis of studies published between 1988 and 2003. **New Phytologist**, Chichester, v. 168, p. 189-204, 2005.

LENTH, R. V. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. 2023. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>

LEYS, D.; TSAPIN, A. S.; NEALSON, K. H.; MEYER, T. E.; CUSANOVICH, M. A.; BEEUMEN, J. J. V. Structure and mechanism of the flavocytochrome c fumarate reductase of *Shewanella putrefaciens* MR-1. **Nature structural biology**, New York, v. 6, n. 12, p. 1113-1117, 1999.

LI, H.; WANG, C.; LI, X.; Xiang, D. Inoculating maize fields with earthworms (*Aporrectodea trapezoides*) and an arbuscular mycorrhizal fungus (*Rhizophagus intraradices*) improves mycorrhizal community structure and increases plant nutrient uptake. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 49, p. 1167-1178, 2013.

LI, L. F.; ZHANG, Y.; ZHAO, Z. W. Arbuscular mycorrhizal colonization and spore density across different land-use types in a hot and arid ecosystem, Southwest China. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 170, n. 3, p. 419-425, 2007.

LIU, R.; CHANG, D.; SUN, Z.; WU, Y.; ZHANG, X.; LU, C.; CAI, B. Effect of *Funneliformis mosseae* and *Thiobacillus thioparus* on sulfur utilization in soybean sterilized soil under continuous cropping. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 490, n. 1, p. 357-370, 2023a.

- LIU, X. Q.; XIE, M. M.; HASHEM, A.; ABD-ALLAH, E. F.; WU, Q. S. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia synergistically promote root colonization, plant growth, and nitrogen acquisition. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 100, p. 691-701, 2023b.
- LOPES, M. J. D. S.; DIAS FILHO, M. B.; GURGEL, E. S. C. Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Lausanne, v. 5, 606454, 2021.
- LOUCA, S.; PARFREY, L. W.; DOEBELI, M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. **Science**, Washington, v. 353, n. 6305, 1272-1277, 2016.
- LOURENÇO, K. S.; SULEIMAN, A. K. A.; PIJL, A.; VEEN, J. A.; CANTARELLA, H.; KURAMAE, E. E. Resilience of the resident soil microbiome to organic and inorganic amendment disturbances and to temporary bacterial invasion. **Microbiome**, London, v. 6, 142, 2018.
- LUO, L.; ZHAO, C.; WANG, E.; RAZA, A.; YIN, C. *Bacillus amyloliquefaciens* as an excellent agent for biofertilizer and biocontrol in agriculture: An overview for its mechanisms. **Microbiological research**, Muenchen, v. 259, 127016, 2022.
- LUTZ, S.; BODENHAUSEN, N.; HESS, J.; VALZANO-HELD, A.; WAELCHLI, J.; DESLANDES-HÉROLD, G.; SCHLAEPPI, K.; HEIJDEN, M. G. A. Soil microbiome indicators can predict crop growth response to large-scale inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. **Nature Microbiology**, London, v. 8, p. 2277-2289, 2023.
- MA, X.; XU, X.; GENG, Q.; LUO, Y.; JU, C.; LI, Q.; ZHOU, Y. Global arbuscular mycorrhizal fungal diversity and abundance decreases with soil available phosphorus. **Global Ecology and Biogeography**, Chichester, v. 32, n. 8, p. 1423-1434, 2023.
- MAGALHÃES, F. M.; BALDANI, J. I.; SOUTO, S. M.; KUYKENDALL, J. R.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 55, p. 417-430, 1983.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.
- MALICKA, M.; MAGURNO, F.; PIOTROWSKA-SEGET, Z. Plant association with dark septate endophytes: When the going gets tough (and stressful), the tough fungi get going. **Chemosphere**, Oxford, v. 302, 134830, 2022.
- MANNA, M.; HAN, G.; JEON, H. W.; KIM, J.; KIM, N.; PARK, A. R.; KIM, J. C.; SEO, Y. S. Influence of resistance-inducing chemical elicitors against pine wilt disease on the rhizosphere microbiome. **Microorganisms**, Basel, v. 8, n. 6, 884, 2020.
- MARTIN, F. M.; HEIJDEN, M. G. The mycorrhizal symbiosis: research frontiers in genomics, ecology, and agricultural application. **New Phytologist**, Chichester, v. 242, n. 4, p. 1486-1506, 2024.

MARTIN, T. N.; VEY, R. T.; VIEIRA, F. C. B.; JACQUES, R. J. S.; FERREIRA, M. M. How did the coinoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* become indispensable for soybean production in Brazil? **Symbiosis**, Dordrecht, v. 91, p. 119-137, 2023.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 4, e61217, 2013.

MENG, X. J.; MEDISON, R. G.; CAO, S.; WANG, L. Q.; CHENG, S.; TAN, L. T.; Sun, Z.-X.; ZHOU, Y. Isolation, identification, and biocontrol mechanisms of endophytic *Burkholderia vietnamiensis* C12 from *Ficus tikoua* Bur against *Rhizoctonia solani*. **Biological Control**, New York, v. 178, 105132, 2023.

MILLÉO, M. V. R.; PANDOLFO, M.; SANTOS, D. S.; SOARES, C. R. F. S.; MOSCARDI, M. L. Agronomic efficiency of an inoculant based on *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 for corn and soybean crops. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 18, n. 1, e2844, 2023.

MORADTALAB, N.; HAJIBOLAND, R.; ALIASGHARZAD, N.; HARTMANN, T. E.; NEUMANN, G. Silicon and the association with an arbuscular-mycorrhizal fungus (*Rhizophagus clarus*) mitigate the adverse effects of drought stress on strawberry. **Agronomy**, Madison, v. 9, n. 1, 41, 2019.

MORETTI, L.G.; CRUSCIOL, C.A.C.; LEITE, M.F.A.; MOMESSO, L.; BOSSOLANI, J. W.; COSTA, O. Y. A.; HUNGRIA, M.; KURAMAE, E. E. Diverse bacterial consortia: key drivers of rhizosoil fertility modulating microbiome functions, plant physiology, nutrition, and soybean grain yield. **Environmental Microbiome**, London, v. 19, 50, 2024.

MURUGAMMAL, M.; SHANTHI, A.; RAMAKRISHNAN, S.; KUMUTHA, K. *Scutellospora* sp. A Mycorrhizal Fungal Species in the Management of Root Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* in Tomato. **Madras Agricultural Journal**, Coimbatore, v. 102, 250-252, 2015.

NEHELA, Y.; MAZROU, Y. S.; ALSHAAL, T.; RADY, A. M.; EL-SHERIF, A. M.; OMARA, A. E. D.; EL-MONEM, A. M. A.; HAFEZ, E. M. The integrated amendment of sodic-saline soils using biochar and plant growth-promoting rhizobacteria enhances maize (*Zea mays* L.) resilience to water salinity. **Plants**, Basel, v. 10, n. 9, 1960, 2021.

NEW, P. B.; TCHAN, Y. T. *Azomonas macrocytogenes* (ex Baillie, Hodgkiss, and Norris 1962, 118) nom. rev. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 32, n. 3, p. 381-382, 1982.

NGUYEN, N. H.; SONG, Z.; BATES, S. T.; BRANCO, S.; TEDERSOO, L.; MENKE, J.; SCHILLING, J. S.; KENNEDY, P. G. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. **Fungal Ecology**, London, v. 20, p. 241-248, 2016.

NINAWA, A. S.; RAJ, R. P. Effect of salinity on the growth and nitrogen fixation of *Azotobacter beijerinckii*. **Journal of Aquaculture**, [s. l.], v. 11, 7-17, 2003.

NOGALES, A.; ROTTIER, E.; CAMPOS, C.; VICTORINO, G.; COSTA, J. M.; COITO, J. L.; PEREIRA, H. S.; VIEGAS, W.; LOPES, C. The effects of field inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi through rye donor plants on grapevine performance and soil properties. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 313, 107369, 2021.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H.; SZOECS, E.; WAGNER, H. vegan: Community Ecology Package. 2019. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

OLANREWAJU, O. S.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 33, 197, 2017.

OLIVEIRA, T. C.; CABRAL, J. S. R.; SANTANA, L. R.; TAVARES, G. G.; SANTOS, L. D. S.; PAIM, T. P.; MÜLLER, C.; SILVA, F. G.; COSTA, A. C.; SOUCHIE, E. L.; MENDES, G. C. The arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus clarus* improves physiological tolerance to drought stress in soybean plants. **Scientific Reports**, London, v. 12, n. 1, 9044, 2022.

PAIVA, C. A. O.; BINI, D.; SOUSA, S. M.; RIBEIRO, V. P.; SANTOS, F. C.; LANA, U. G. P.; 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**, Lausanne, v. 15, 1426166, 2024.

PARK, I.; SEO, Y. S.; MANNAA, M. Recruitment of the rhizo-microbiome army: assembly determinants and engineering of the rhizosphere microbiome as a key to unlocking plant potential. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 14, 1163832, 2023.

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.; YUN, B. W. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **PloS one**, San Francisco, v. 12, n. 3, e0173203, 2017.

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**, Dordrecht, v. 40, 77, 2024.

PAUWELS, R.; GRAEFE, J.; BITTERLICH, M. An arbuscular mycorrhizal fungus alters soil water retention and hydraulic conductivity in a soil texture specific way. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 33, p. 165-179, 2023.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009.

- POŠTA, A.; TKALČEC, Z.; KUŠAN, I.; MATOČEC, N.; POLE, L.; ČERKEZ, M.; MEŠIĆ, A. An Integrative Taxonomic Study of *Parasola* (Psathyrellaceae, Fungi) Reveals a New Saprotrophic Species from European Temperate Deciduous Forests. **For-ests**, Basel, v. 14, n. 7, 1387, 2023.
- PRIMIERI, S.; MAGNOLI, S. M.; KOFFEL, T.; STÜRMER, S. L.; BEVER, J. D. Perennial, but not annual legumes synergistically benefit from infection with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia: a meta-analysis. **New Phytologist**, Chichester, v. 233, n. 1, p. 505-514, 2022.
- QU, Q.; ZHANG, Z.; PEIJNENBURG, W. J. G. M.; LIU, W.; LU, T.; HU, B.; CHEN, J.; CHEN, J.; LIN, Z.; QIAN, H. Rhizosphere microbiome assembly and its impact on plant growth. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washing-
ton, v. 68, n. 18, p. 5024-5038, 2020.
- R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Founda-
tion for Statistical Computing. 2023. <https://www.R-project.org/>
- RAIJ, B.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química do solo para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronô-
mico de Campinas, 2001. 285 p.
- RAIJ, B.; CANTARELLA, H. Milho para grãos e silagem. In: RAIJ, B.; CAN-
TARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (ed.). **Boletim 100**: Recomen-
dações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agronô-
mico de Campinas/Fundação IAC, 1997. p. 56-57.
- RAJPUT, L.; IMRAN, A.; MUBEEN, F.; HAFEEZ, F. Y. Salt-tolerant PGPR strain *Planococcus rifietoensis* promotes the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivated in saline soil. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 45, n. 6, p. 1955-1962, 2013.
- RAMESH, A.; SHARMA, S. K.; SHARMA, M. P.; YADAV, N.; JOSHI, O. P. Inocu-
lation of zinc solubilizing *Bacillus aryabhattai* strains for improved growth, mobiliza-
tion and biofortification of zinc in soybean and wheat cultivated in Vertisols of central
India. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 73, p. 87-96, 2014.
- RAMÍREZ, C. A.; KLOEPPER, J. W. Plant growth promotion by *Bacillus amylolique-
faciens* FZB45 depends on inoculum rate and P-related soil properties. **Biology and
Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 46, p. 835-844, 2010.
- REIS, V. M.; RIOS, F. A.; BRAZ, G. B. P.; CONSTANTIN, J.; HIRATA, E. S.; BI-
FFE, D. F. PERFORMANCE AGRONÔMICA DA CANA-DE-AÇÚCAR SUBME-
TIDA À INOCULAÇÃO DE *Nitrospirillum amazonense* (BR11145). **Revista
Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 4, p. 918-926, 2020.

REVELLE, W. psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research. Northwestern University. 2022. <https://CRAN.R-project.org/package=psych>
RIGOBELLO, E. C.; CARVALHO, L. A. L.; SANTOS, C. H. B.; FREZARIN, E. T.; PINHEIRO, D. G.; NICODEMO, D.; BABALOLA, O. O.; DESOIGNIES, N. Growth promotion and modulation of the soybean microbiome INTACTA RR PRO with the application of the fungi *Trichoderma harzianum* and *Purpureocillium lilacinum*. **Scientific Reports**, London, v. 14, 21004, 2024.

RILLING, J. I.; ACUÑA, J. J.; NANNIPIERI, P.; CASSAN, F.; MARUYAMA, F.; JORQUERA, M. A. Current opinion and perspectives on the methods for tracking and monitoring plant growth-promoting bacteria. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 130, p. 205-219, 2019.

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

RODRIGUES, J. V. T. **Doses de nitrogênio e aplicação foliar de *Nitrospirillum amazonense* e *Bacillus subtilis* em arroz de terras altas irrigado por aspersão**. Orientador: Orivaldo Arf. 2024. 39f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira, 2024.

ROGNES, T.; FLOURI, T.; NICHOLS, B.; QUINCE, C.; MAHÉ, F. VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. **PeerJ**, London, v. 4, e2584, 2016.

SAADATPOUR, F.; MOHAMMADIPANAH, F. Bioprospecting of indigenous myxobacteria from Iran and potential of *Cystobacter* as a source of anti-MDR compounds. **Folia Microbiologica**, Dordrecht, v. 65, p. 639-648, 2020.

SAITO, M.; OBA, H.; KOJIMA, T. Effect of nitrogen on the sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing several gramineous plant species. **Soil Science and Plant Nutrition**, Singapore, v. 57, n. 1, p. 29-34, 2011.

SALEEM, M.; HU, J.; JOUSSET, A. More than the sum of its parts: microbiome biodiversity as a driver of plant growth and soil health. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, v. 50, p. 145-168, 2019.

SANTINI, J. M.; BUZETTI, S.; TEIXEIRA FILHO, M.; GALINDO, F. S.; COAGUILA, D. N.; BOLETA, E. H. Doses and forms of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize crop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 22, p. 373-377, 2018.

SANTOS H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAÚJO, J. C. F.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2018. 356 p.

SANTOS, L. F.; OLIVARES, F. L. Plant microbiome structure and benefits for sustainable agriculture. **Current Plant Biology**, Amsterdam, v. 26, 100198, 2021.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: Lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 45, e0200128, 2021a.

SANTOS, M.; CESANELLI, I.; DIÁNEZ, F.; SÁNCHEZ-MONTESINOS, B.; MORENO-GAVÍRA, A. Advances in the role of dark septate endophytes in the plant resistance to abiotic and biotic stresses. **Journal of Fungi**, Basel, v. 7, n. 11, 939, 2021b.

SASSE, J.; MARTINOIA, E.; NORTHEN, T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 23, n. 1, p. 25-41, 2018.

SAYAH, A.; SOURI, B. Evaluation of simultaneous application of powder sulfur and *Thiobacillus thioparus* to improve calcareous soils of western Iran. **Iranian Journal of Soil and Water Research**, [s. l.], v. 50, p. 753-762, 2019.

SCHAFER, D. J. The genus *Parasola* in Britain including *Parasola cuniculorum* sp. nov. **Field Mycology**, London, v. 15, n. 3, p. 77-99, 2014.

SCHALAMUK, S.; CABELLO, M. N.; CHIDICHIMO, H.; GOLIK, S. Effects of inoculation with *Glomus mosseae* in conventionally tilled and nontilled soils with different levels of nitrogen fertilization on wheat growth, arbuscular mycorrhizal colonization, and nitrogen nutrition. **Communications in soil science and plant analysis**, New York, v. 42, n. 5, p. 586-598, 2011.

SCHERWINSKI, K.; GROSCHE, R.; BERG, G. Effect of bacterial antagonists on lettuce: active biocontrol of *Rhizoctonia solani* and negligible, short-term effects on non-target microorganisms. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 64, v. 1, p. 106–116, 2008.

SCHWAB, S.; TERRA, L. A.; BALDANI, J. I. Genomic characterization of *Nitrospirillum amazonense* strain CBAmC, a nitrogen-fixing bacterium isolated from surface-sterilized sugarcane stems. **Molecular Genetics and Genomics**, Heidelberg, v. 293, p. 997-1016, 2018.

SEMENOV, M. V.; KRASNOV, G. S.; SEMENOV, V. M.; BRUGGEN, A. H. C. Longterm fertilization rather than plant species shapes rhizosphere and bulk soil prokaryotic communities in agroecosystems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 154, 103641, 2020.

SEO, J. S.; KEUM, Y. S.; LI, Q. X. Bacterial degradation of aromatic compounds. **International journal of environmental research and public health**, v. 6, n. 1, p. 278-309, 2009.

SHAH, A.; NAZARI, M.; ANTAR, M.; MSIMBIRA, L. A.; NAAMALA, J.; LYU, D.; RABILEH, M.; ZAJONC, J.; SMITH, D. L. PGPR in agriculture: A sustainable approach to increasing climate change resilience. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, Lausanne, v. 5, 667546, 2021.

SHETEIWY, M. S.; ELGAWAD, H. A.; XIONG, Y.-C.; MACOVEI, A.; BRESTIC, M.; SKALICKY, M.; SHAGHALEH, H.; HAMOUD, Y. A.; EL-SAWAH, A. M. Inoculation with *Bacillus amyloliquefaciens* and mycorrhiza confers tolerance to drought stress and improve seed yield and quality of soybean plant. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 172, n. 4, p. 2153-2169, 2021.

SHI, X. C.; TREMBLAY, P. L.; XUE, M.; SONG, X.; ZHANG, T. Fumarate disproportionation by *Geobacter sulfurreducens* and its involvement in biocorrosion and interspecies electron transfer. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 827, 154251, 2022.

SHINJO, R.; UESAKA, K.; IHARA, K.; SAKAZAKI, S.; YANO, K.; KONDO, M.; TANAKA, A. Draft genome sequence of *Burkholderia vietnamiensis* strain RS1, a nitrogen-fixing endophyte isolated from sweet potato. **Microbiology Resource Announcements**, Washington, v. 7, n. 3, e00820–e00818, 2018.

SICA, P. S.; SHIRATA, E. S.; RIOS, F. A.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; ESTRADA, K. R. F. S.; OLIVEIRA, R. S. Impact of N-fixing bacterium '*Nitrospirillum amazonense*' on quality and quantitative parameters of sugarcane under field condition. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 14, n. 12, p. 1870-1875, 2020.

SILVA, A. V.; MELO, J. D. M. G.; COSTA, N.; SCALLI, B. M.; OLIVEIRA, T. C.; SARTORI, T. C. F. T. Agronomic characteristics and yield of corn after inoculation with *Bacillus amyloliquefaciens*. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 15, e20231730, 2023.

SILVA, W. L.; FACHIN-ESPINAR, M. T.; SOUZA, M. C. S.; LIMA, L. M.; NUNEZ, C. V. Avaliação química e biológica de *Graphium jumulu*, fungo endofítico de *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae). **Revista Fitos**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 238-248, 2020.

SKONIESKI, F. R.; VIÉGAS, J.; MARTIN, T. N.; MINGOTTI, C. C. A.; NAE-TZOLD, S.; TONIN, T. J.; DOTTO, L. R.; MEINERZ, G. R. Effect of nitrogen top-dressing fertilization and inoculation of seeds with *Azospirillum brasilense* on corn yield and agronomic characteristics. **Agronomy**, Madison, v. 9, n. 12, 812, 2019.

SMITH, S. E.; READ, D. **Mycorrhizal symbiosis**, 3 ed .. London: Academic Press. 2008.

SOIL SURVEY STAFF. **Gridded Soil Survey Geographic (gSSURGO) Database for the Conterminous United States**. Washington, DC: USDA Natural Resources Conservation Service. 2017.

- SOLÍS-DOMÍNGUEZ, F. A.; VALENTÍN-VARGAS, A.; CHOROVER, J.; MAIER, R. M. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant biomass and the rhizosphere microbial community structure of mesquite grown in acidic lead/zinc mine tailings. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 409, n. 6, p. 1009-1016, 2011.
- SOUSA, H. C.; SOUSA, G. G.; VIANA, T. V. A.; PEREIRA, A. P. A.; LESSA, C. I. N.; SOUZA, M. V. P.; GUILHERME, J. M. S.; GOES, G. F.; ALVES, F. G. S.; GOMES, S. P.; SILVA, F. D. B. *Bacillus aryabhattai* mitigates the effects of salt and water stress on the agronomic performance of maize under an agroecological System. **Agriculture**, Okitipupa, v. 13, n. 6, 1150, 2023.
- STOFFEL, S. C. G.; SOARES, C. R. F. S.; MEYER, E.; LOVATO, P. E.; GIACHINI, A. J. Yield increase of corn inoculated with a commercial arbuscular mycorrhizal inoculant in Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 7, e20200109, 2020.
- SUÁREZ-MORENO, Z. R.; CABALLERO-MELLADO, J.; COUTINHO, B. G.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; JAMES, E. K.; VENTURI, V. Common features of environmental and potentially beneficial plant-associated *Burkholderia*. **Microbial Ecology**, New York, v. 63, p. 249-266, 2012.
- TAGELE, S. B.; KIM, S. W.; LEE, H. G.; LEE, Y. S. Potential of novel sequence type of *Burkholderia cenocepacia* for biological control of root rot of maize (*Zea mays* L.) caused by *Fusarium temperatum*. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 20, n. 5, 1005, 2019.
- TANG, S. Y.; HARA, S.; MELLING, L.; GOH, K. J.; HASHIDOKO, Y. *Burkholderia vietnamiensis* isolated from root tissues of Nipa palm (*Nypa fruticans*) in Sarawak, Malaysia, proved to be its major endophytic nitrogen-fixing bacterium. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Oxford, v. 74, n. 9, p. 1972-1975, 2010.
- THIRKELL, T. J.; CHARTERS, M. D.; ELLIOTT, A. J.; SAIT, S. M.; FIELD, K. J. Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security. **Journal of Ecology**, Chichester, v. 105, n. 4, p. 921-929, 2017.
- THOMSEN, C.; LOVEROCK, L.; KOKKORIS, V.; HOLLAND, T.; BOWEN, P. A.; HART, M. Commercial arbuscular mycorrhizal fungal inoculant failed to establish in a vineyard despite priority advantage. **PeerJ**, London, v. 9, e11119, 2021.
- TIAN, X.; ENGEL, B. A.; QIAN, H.; HUA, E.; SUN, S.; WANG, Y. Will reaching the maximum achievable yield potential meet future global food demand? **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 294, 126285, 2021.
- TRABELSI, D.; MHAMDI, R. Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: A review. **BioMed research international**, London, v. 2013, 86324, 2013.
- TRIVEDI, P.; LEACH, J. E.; TRINGE, S. G.; SA, T.; SINGH, B. K. Plant-microbiome interactions: From community assembly to plant health. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 18, p. 607-621, 2020.

UFNAR, J. A.; WANG, S. Y.; CHRISTIANSEN, J. M.; YAMPARA-IQUISE, H.; CARSON, C. A.; ELLENDER, R. D. Detection of the *nifH* gene of *Methanobrevibacter smithii*: a potential tool to identify sewage pollution in recreational waters. **Journal of applied microbiology**, Chichester, v. 101, n. 1, p. 44-52, 2006.

VÁZQUEZ, M. M.; CÉSAR, S.; AZCÓN, R.; BAREA, J. M. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 261-272, 2000.

VOŘÍŠKOVÁ, A.; JANSÁ, J.; PÜSCHEL, D.; VOSÁTKA, M.; ŠMILAUER, P.; JANOUSHKOVÁ, M. Abiotic contexts consistently influence mycorrhiza functioning independently of the composition of synthetic arbuscular mycorrhizal fungal communities. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 29, p. 127-139, 2019.

WANG, L.; LI, Z.; ZHANG, G.; LIANG, X.; HU, L.; LI, Y.; HE, Y.; ZHAN, F. Dark septate endophyte *Exophiala pisciphila* promotes maize growth and alleviates cadmium toxicity. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 14, 1165131, 2023.

WANG, Z. T.; LIU, L.; CHEN, Q.; WEN, X. X.; LIAO, Y. C. Conservation tillage increases soil bacterial diversity in the dryland of northern China. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 36, 28, 2016.

WANG, Z.; LI, Y.; LI, T.; ZHAO, D.; LIAO, Y. Tillage practices with different soil disturbances shape the rhizosphere bacterial community throughout crop growth. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 197, 104501, 2020.

WART, J.; KERSEBAUM, K. C.; PENG, S.; MILNER, M.; CASSMAN, K. G. Estimating crop yield potential at regional to national scales. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 143, p. 34-43, 2013.

WILKES, T. I.; WARNER, D. J.; EDMONDS-BROWN, V.; DAVIES, K. G. Species-specific interactions of *Bacillus innocula* and arbuscular mycorrhizal fungi symbiosis with Winter Wheat. **Microorganisms**, Basel, v. 8, n. 11, 1795, 2020.

XU, J.; LIU, S.; SONG, S.; GUO, H.; TANG, J.; YONG, J. W. H.; MA, Y.; CHEN, X. Arbuscular mycorrhizal fungi influence decomposition and the associated soil microbial community under different soil phosphorus availability. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 120, p. 181-190, 2018.

XU, R.; LI, T.; SHEN, M.; YANG, Z. L.; ZHAO, Z. W. Evidence for a dark septate endophyte (*Exophiala pisciphila*, H93) enhancing phosphorus absorption by maize seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 452, p. 249-266, 2020.

ZAHEER, M. S.; ALI, H. H.; IQBAL, M. A.; ERINLE, K. O.; JAVED, T.; IQBAL, J.; HASHMI, M. I. U.; MUMTAZ, M. Z.; SALAMA, E. A. A.; KALAJI, H. M.; WRÓBEL, J.; DESSOKY, E. S. Cytokinin production by *Azospirillum brasilense* contributes to increase in growth, yield, antioxidant, and physiological systems of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 13, 886041, 2022.

ZEROUKI, C.; CHAKRABORTY, K.; KUITTINEN, S.; PAPPINEN, A.; TURUNEN, O. Whole-genome sequence and mass spectrometry study of the snow blight fungus *Phacidium infestans* (Karsten) DSM 5139 growing at freezing temperatures. **Molecular Genetics and Genomics**, Heidelberg, v. 298, p. 1449-1466, 2023.

ZHANG, J.; KOBERT, K.; FLOURI, T.; STAMATAKIS, A. PEAR: A fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. **Bioinformatics**, Oxford, v. 30, n. 5, p. 614-620, 2014.

ZHANG, S.; LEHMANN, A.; ZHENG, W.; YOU, Z.; RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain yields: a meta-analysis. **New Phytologist**, Chichester, v. 222, n. 1, p. 543-555, 2018.

MATERIAL SUPLEMENTAR

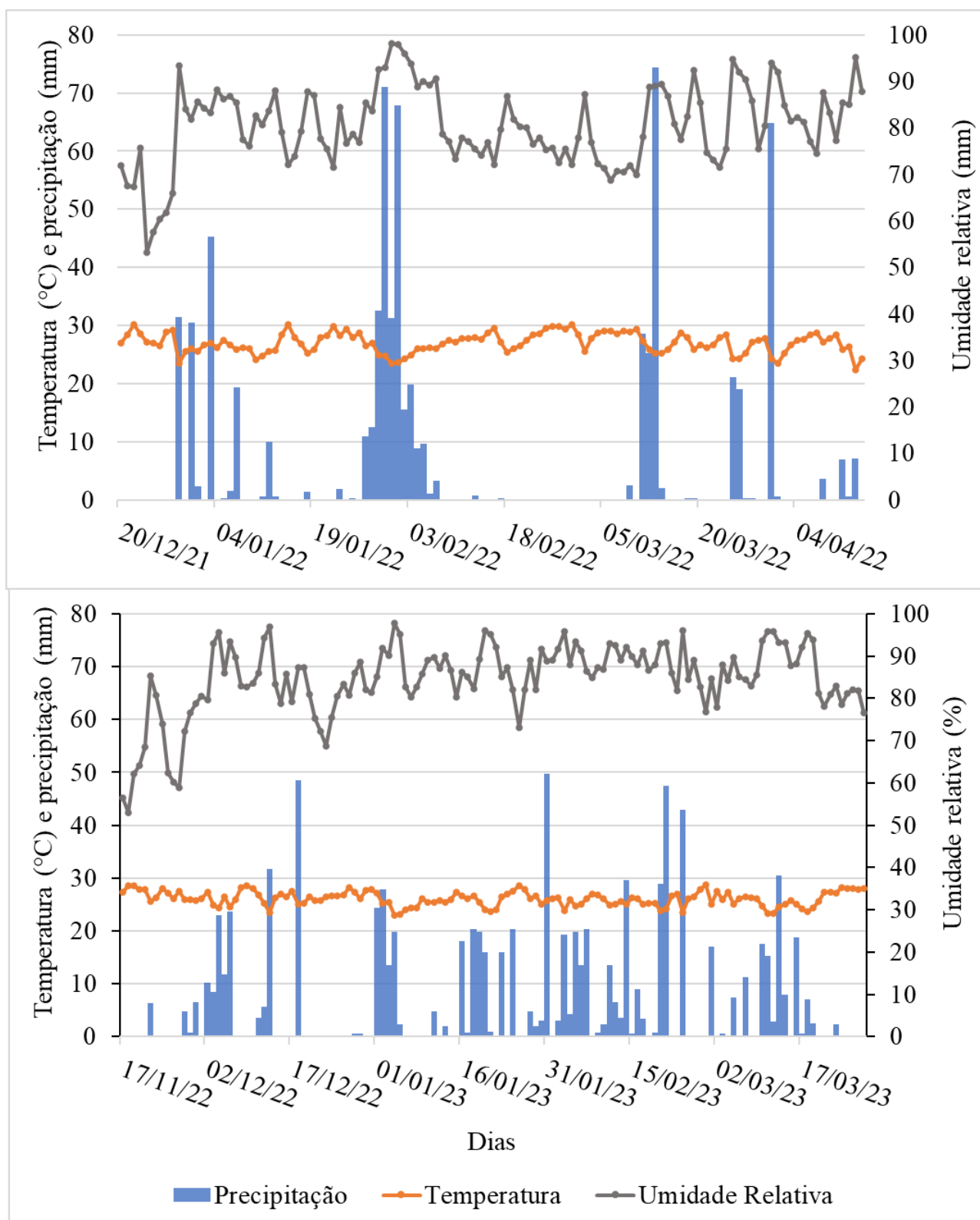
Tabela S3.1 Links para consulta das buscas avançadas na Web of Science, outubro de 2024

BUSCA AVANÇADA - WEB OF SCIENCE			
BUSCA	LINK	RESULTADOS	%
inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi <i>Zea mays</i>	https://www.webof-science.com/wos/woscc/summary/d12e589e-6e12-4c3f-a200-17bd78b8c942-01122ba1a2/relevance/1	382	100,0%
inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi <i>Zea mays</i> field	https://www.webof-science.com/wos/woscc/summary/267cfb9d-3123-4944-a786-699bbe6c021d-01122be941/relevance/1	112	29,3%
inoculation of arbuscular mycorrhizal fungus and bacteria <i>Zea mays</i> field	https://www.webof-science.com/wos/woscc/summary/c3a2ca03-a30f-45ca-bafd-563fab04430e-01122c130e/relevance/1	18	4,5%

Nota: Todas as buscas contaram com o filtro 'Refined By: Document Types: Article'.

Fonte: Web of Science.

Figura S3.1 Dados diários de temperatura média, precipitação e umidade relativa do ar média durante a execução do experimento.



Fonte: <https://clima.feis.unesp.br/>

Tabela S3.2 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para número de grãos por fileira em espiga de milho

BPCP	2021/22	2022/23
Testemunha	35,4 a	37,7 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	34,8 a	38,0 a
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	34,0 a	37,9 a
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	35,8 a	36,4 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	35,1 a	37,6 a
<i>Bacillus aryabhatai</i>	35,3 a	37,3 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	35,5 a	36,8 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	35,1 a	37,2 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S3.3 Desdobramento da interação entre inoculação de *Rhizoglyphus clarum* (FMA) e anos de experimento para teor de N foliar de milho

FMA Inoculado/Ano	2021/22	2022/23
FMA Ausente	28,5 a	30,1 a
FMA Presente	29,4 a	29,2 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

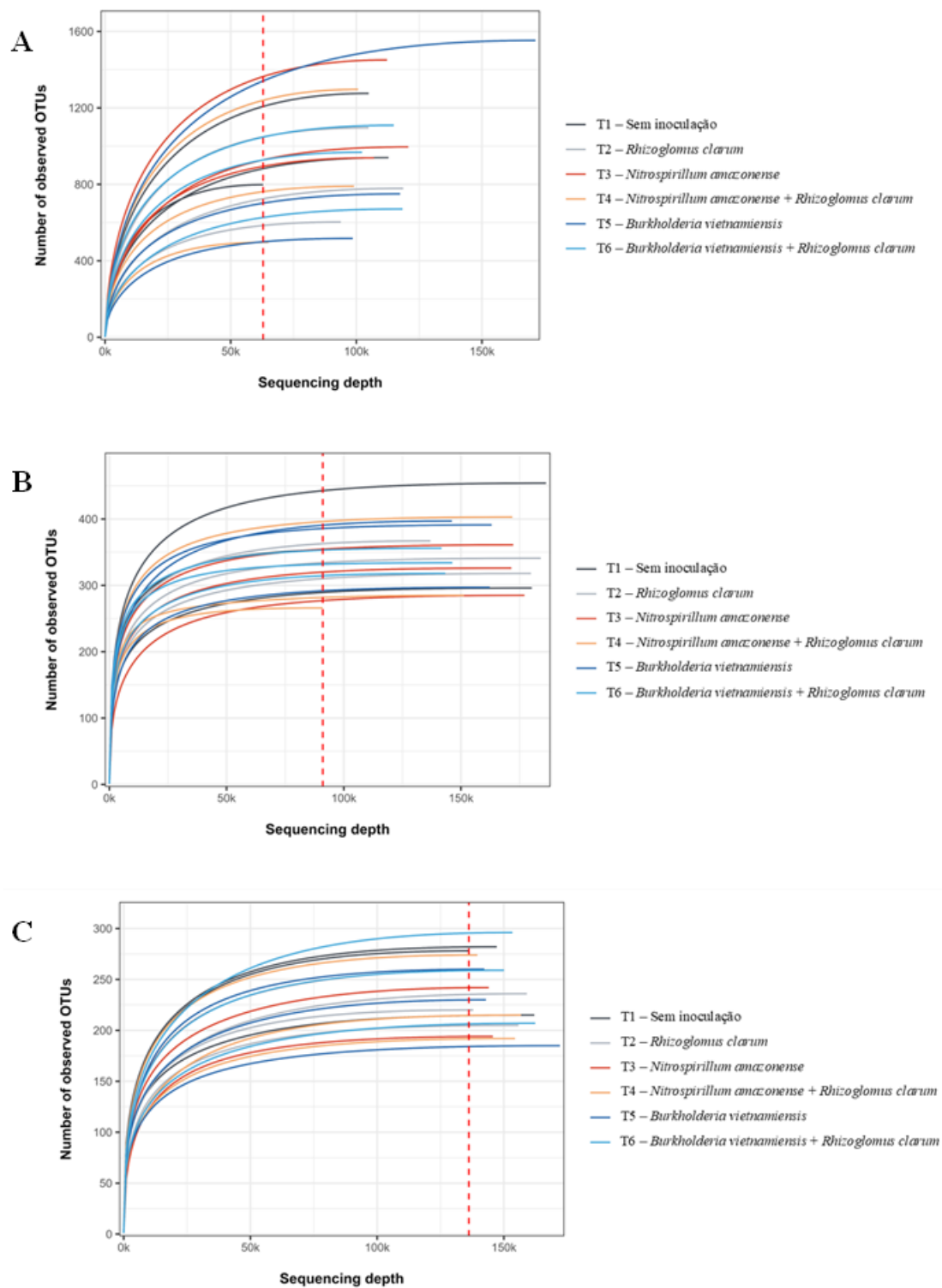
Tabela S3.4 Desdobramento da interação entre inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para teor de potássio foliar de milho

BPCP	2021/22	2022/23
Testemunha	30,7 a	30,3 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	31,6 a	29,9 a
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	31,1 a	29,1 a
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	30,9 a	30,2 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	31,7 a	29,9 a
<i>Bacillus aryabhatai</i>	31,8 a	30,2 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	31,7 a	29,6 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	31,1 a	29,4 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

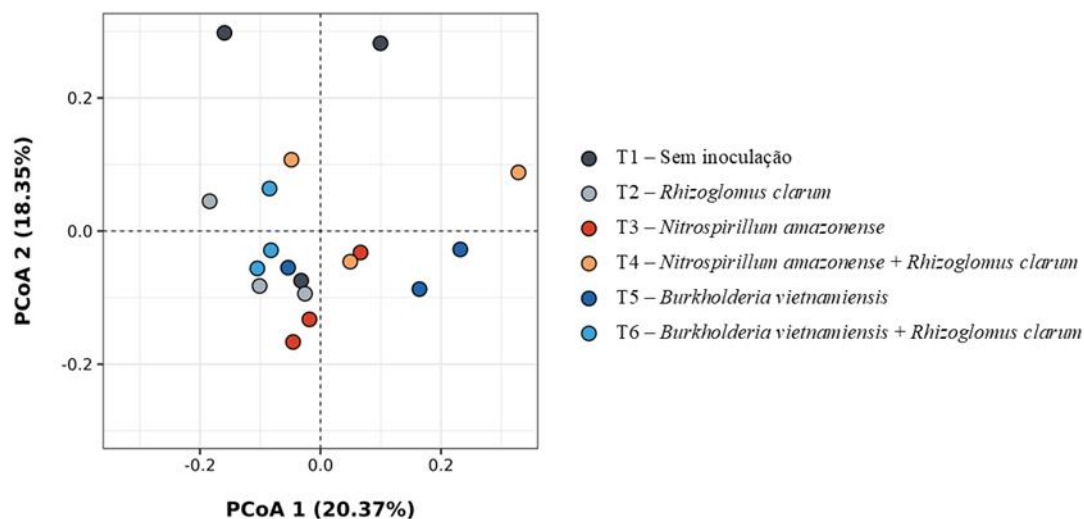
Fonte: Dados do próprio autor.

Figura S3.2 Curva de rarefação para avaliação do esforço amostral dos sequenciamentos das regiões gênicas associadas aos marcadores do 16S, ITS1 e 28S (A, B e C, respectivamente)



Fonte: Dados do próprio autor.

Figura S3.3 Análise de coordenadas principais realizada com distâncias de Bray-Curtis de comunidades bacterianas em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossum clarum* (FMA)



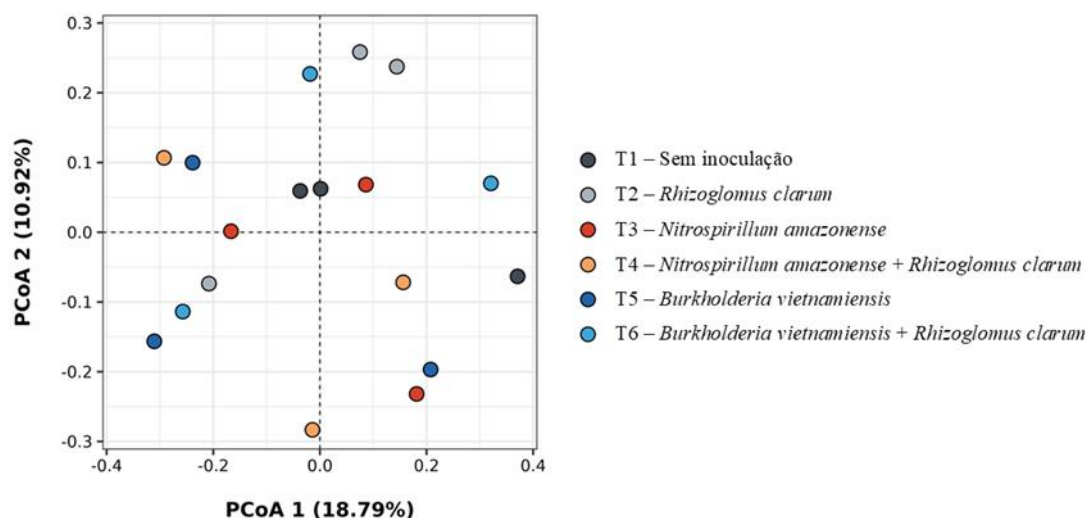
PERMANOVA (BPCP): $F = 1,074$; $R^2 = 0,112$; p-valor = 0,359

PERMANOVA (FMA): $F = 1,250$; $R^2 = 0,065$; p-valor = 0,220

PERMANOVA (BPCP x FMA): $F = 1,870$; $R^2 = 0,195$; p-valor = 0,003

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura S3.4 Análise de coordenadas principais realizada com distâncias de Bray-Curtis de comunidades fúngicas em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossum clarum* (FMA)



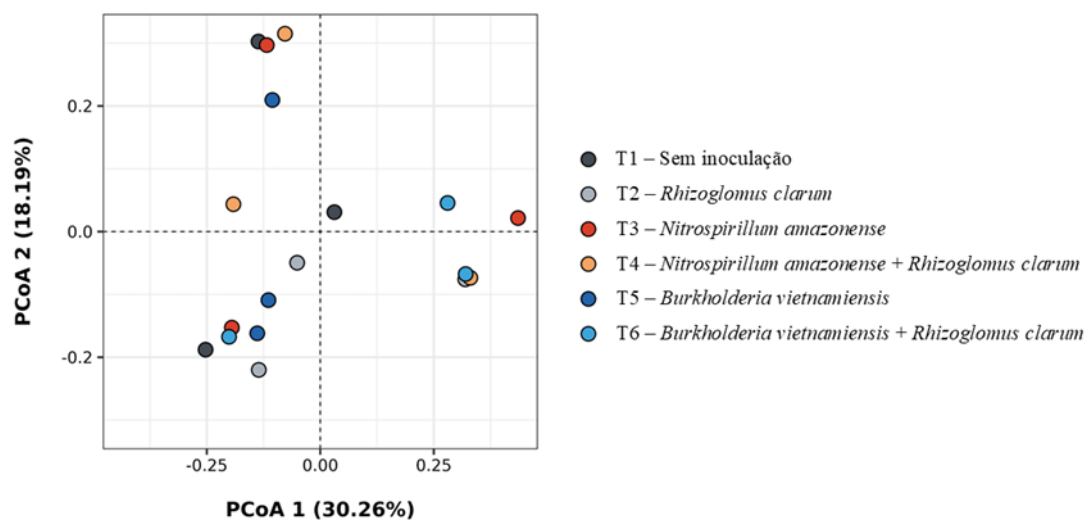
PERMANOVA (BPCP): $F = 0,848$; $R^2 = 0,104$; p-valor = 0,795

PERMANOVA (FMA): $F = 0,856$; $R^2 = 0,052$; p-valor = 0,703

PERMANOVA (BPCP x FMA): $F = 0,886$; $R^2 = 0,109$; p-valor = 0,720

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura S3.5 Análise de coordenadas principais realizada com distâncias de Bray-Curtis de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de milho após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossus clarum* (FMA)



PERMANOVA (BPCP): $F = 0,818$; $R^2 = 0,100$; p-valor = 0,667

PERMANOVA (FMA): $F = 1,250$; $R^2 = 0,076$; p-valor = 0,254

PERMANOVA (BPCP x FMA): $F = 0,749$; $R^2 = 0,091$; p-valor = 0,750

Fonte: Dados do próprio autor.

4 BACTÉRIAS PROMOTORAS DO CRESCIMENTO DE PLANTAS E *Rhizoglo- mus clarum* MODULAM A NUTRIÇÃO, PRODUTIVIDADE E COMUNI- DADE MICROBIANA DAS RAÍZES DO FEIJÃO DE INVERNO

RESUMO

O feijão é um alimento essencial para as pessoas e, no Brasil, é uma boa opção de cultivo após o milho primeira safra. Embora a inoculação com rizóbios seja importante para a cultura, seus resultados ainda são limitados e a coinoculação com outras bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) é essencial. Por outro lado, a coinoculação de BPCP com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) não é muito compreendida na cultura. Este trabalho estudou os efeitos de BPCP de coleções brasileiras, comparadas ao *Azospirillum brasilense*, suas coinoculações com o FMA *Rhizoglo-
mus clarum* e da repetição das inoculações sobre o crescimento, produtividade e nutrição do feijão de inverno em sucessão ao milho no cerrado. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados e esquema fatorial 8 x 2, com quatro repetições e subdivisão no tempo para os anos de cultivo (2022 e 2023). Os tratamentos foram constituídos pela inoculação das BPCP *Azospirillum brasilense*, *Azomonas macrocytogenes*, *Azotobacter beijerinckii*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus aryabhattai*, *Burkholderia vietnamiensis* e *Nitrospi-
rillum amazonense*, além da testemunha não inoculada, combinadas ou não com o FMA *R. clarum*. Os resultados mostraram que a inoculação com *R. clarum* aumentou a produtividade do feijoeiro em 200 kg ha⁻¹ em 2022, além de melhorar a exportação de nitrogênio (N), potássio (K), magnésio (Mg) e ferro (Fe) pelos grãos. As bactérias *Az. brasilense* e *Azot. beijerinckii* inoculadas elevaram o acúmulo de N pela planta. Além disso, *Azot. beijerinckii* também proporcionou maior teor e exportação de Fe pelos grãos, e sua coinoculação com *R. clarum* aumentou o acúmulo de Zn nas plantas. As inoculações de *B. aryabhattai* e de *N. amazonense* aumentaram o teor e a exportação de Fe pelos grãos, enquanto a aplicação de *Bur. vietnamiensis* promoveu maior número de grãos por planta e maior acúmulo de cobre pelas plantas. As coinoculações de *Az. brasilense*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis* com *R. clarum* aumentaram o acúmulo de fósforo nas plantas. Por fim, as inoculações de *Az. brasilense*, *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense* e suas coinoculações com *R. clarum*, promoveram alterações na diversidade microbiana (bactérias, fungos e FMA) recrutada pelas raízes do feijão. Concluindo, este estudo demonstra que *R. clarum* pode beneficiar o feijão de inverno, aumentando a produtividade e modulando o microbioma das raízes. Da mesma forma, as BPCP e as suas coinoculações com o FMA podem beneficiar o crescimento e a nutrição da cultura. No entanto, as respostas variam entre espécies e combinações microbianas, destacando a necessidade de estudos adicionais para consolidar essas práticas como ferramentas sustentáveis na agricultura.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; inoculação microbiana; coinoculação; sucessão milho-feijão; microbioma radicular; *Azospirillum brasilense*.

4.1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) desempenha papel crucial na alimentação humana direta, especialmente nos países menos desenvolvidos do mundo (Murube *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2021). O aumento contínuo da população mundial, especialmente em países em desenvolvimento, aumentará a demanda por alimentos, o que inclui o feijão (Schultz, 2018; Steduto *et al.*, 2018; United Nations, 2019). No Brasil, o feijão é muito cultivado na safra de inverno em áreas irrigadas e em plantio direto, sendo o milho cultivado no verão considerado como um cultivo antecessor recomendado (Lemos *et al.*, 2015).

Porém, a produtividade limitada dessa cultura, somada aos efeitos negativos das mudanças climáticas sobre a agricultura, torna urgente medidas para prevenir a insegurança alimentar, aumentando a produção de alimentos (Nelson *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2017; Myers *et al.*, 2017; Tesfaye *et al.* 2017; Arneth *et al.*, 2019; Rising; Devineni, 2020). Além do melhoramento genético, práticas como o uso de inoculantes biológicos com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA), são soluções sustentáveis para aumentar a produtividade do feijão e reduzir a dependência de fertilizantes químicos (Hernandez; Chailloux, 2004; Nalayini *et al.*, 2010; Bona *et al.*, 2015; Saeed *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2016), mitigando impactos ambientais como a emissão de gases de efeito estufa e a eutrofização de corpos d'água (Vitousek *et al.*, 2009).

Diferentemente da soja, o feijoeiro é considerado uma planta promíscua, realizando simbiose com a alta população de rizóbios nativos do solo, mesmo com espécies ineficientes quanto à fixação biológica do nitrogênio (FBN). Esse detalhe tem limitado os efeitos da inoculação com estirpes superiores recomendadas como a espécie *Rhizobium tropici* (Shamseldin; Velázquez, 2020; Hungria *et al.*, 2003). A combinação da inoculação desta espécie com *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* ou *Azospirillum brasilense* no feijão se mostrou sinérgica, gerando incrementos de produtividade maiores do que a inoculação isolada dos microrganismos (Filipini *et al.*, 2021; Mortinho *et al.*, 2022; Messias *et al.*, 2023), porém não há estudos sobre a combinação de FMA e BPCP associativas no feijoeiro.

Existem muitas lacunas de conhecimento sobre o efeito das inoculações, tanto ao nível da planta quanto no solo, especialmente para o feijão cultivado em campo. Isso fica demonstrado após busca avançada no Web o Science com os termos “inoculation of

arbuscular mycorrhizal fungus and bacteria and *Phaseolus vulgaris* field” retornar apenas 5 artigos (Tabela Suplementar S4.1). Geralmente os resultados em respostas à inoculação com microrganismos são mais pronunciados quando os experimentos são conduzidos em condições controladas, mas isso não necessariamente reflete a realidade no campo (Ryan; Graham, 2018).

Dentre os fatores que influenciam o desempenho das inoculações e o próprio crescimento das plantas, está a comunidade microbiana nativa no solo que, atualmente, podem ser estudadas pelas técnicas moleculares. A interação entre as plantas, os microrganismos inoculados e a comunidade microbiana nativa do solo é complexa, sendo que as inoculações podem modular o recrutamento de microrganismos endofíticos e da rizosfera, resultando em mudanças nas plantas decorrente de modificações no seu microbioma (Ambrosini *et al.*, 2016; Mawarda *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2022; Djemiel *et al.*, 2022). Por exemplo, o trabalho de Moretti *et al.* (2024) demonstrou que diferentes consórcios microbianos inoculados impactam de maneiras distintas a comunidade microbiana da rizosfera e suas funções.

Devido à escassez de pesquisas sobre o tema, o objetivo deste trabalho foi de determinar, para a cultura do feijão em condições de campo: 1) se diferentes espécies de bactérias promotoras do crescimento de plantas disponíveis em coleções brasileiras são tão benéficas quanto *Az. brasilense*; 2) identificar combinações sinérgicas da inoculação de BPCP e FMA na cultura; 3) entender como essas inoculações podem influenciar o microbioma da raiz das plantas de feijão; 4) se o cultivo de feijão em sucessão ao milho, se beneficia das inoculações repetidas a cada safra.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Área experimental

O cultivo de feijão foi realizado em sucessão ao cultivo de milho, ou seja, na mesma área, repetindo-se os tratamentos nas mesmas parcelas. Dessa forma, a localização e a caracterização edafoclimática da área experimental estão descritas no Capítulo 2.

Os dados climáticos referentes ao período de cultivo do feijão foram coletados na estação meteorológica da UNESP de Ilha Solteira e estão disponíveis na Figura Suplementar S4.1. A análise de fertilidade do solo realizada previamente ao segundo ano de

cultivo de feijão foi realizada de acordo com Raij *et al.* (2001) e os resultados estão demonstrados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Valores de fertilidade do solo anteriormente ao segundo ano da cultura do feijão

P (resina) -- mg dm ⁻³ --	S-SO₄	pH CaCl ₂	K	Ca	Mg	H+Al
10	2	5,1	3	20	16	25
MO g dm ⁻³	Cu	Fe	Mn	Zn	B	Saturação de bases %
27	3,2	20	26,7	1,4	0,22	61

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo, UNESP/Ilha Solteira.

4.2.2 Delineamento experimental e material biológico

Da mesma forma que para o milho, o experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, com 4 repetições e esquema fatorial 8 x 2. Foram combinados 8 tratamentos de inoculação bacteriana com a ausência ou presença de inoculação do FMA *Rhizoglossus clarum*. Cada parcela do experimento foi composta de 11 linhas de 6 metros de comprimento, com espaçamento de 0,45 m entre linhas. A cultivar de feijão carioca IAC 1850 foi utilizada nos dois anos desse trabalho. Trata-se de uma cultivar de feijão com ciclo médio de 90 dias, com plantas semieretas, hábito de crescimento tipo II indeterminado e elevada produtividade média (Carbonell *et al.*, 2019). Os tratamentos foram aplicados no milho de verão 2021/22, em seguida no feijão de inverno em 2022, depois novamente no milho (safra 2022/23) e por fim, no feijão de inverno (safra 2023).

Os tratamentos da inoculação bacteriana foram mesmos do capítulo anterior, escolhidos com base nos resultados do Capítulo 1. Assim, as bactérias inoculadas foram: *Azospirillum brasilense* (Ab-V5, cepa 2083), *Azomonas macrocytogenes* (BR 10692), *Azotobacter beijerinckii* (BR 10657), *Bacillus amyloliquefaciens* (ATCC 23350), *Bacillus aryabhattai* (CBMAI 1120), *Burkholderia vietnamiensis* (BR 12311) e *Nitrospirillum amazonense* (BR 11142), além de uma testemunha não inoculada. Essas espécies foram disponibilizadas pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner, pela Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria e pelo Laboratório de Microbiologia do Solo da UNESP – Campus de Jaboticabal.

As bactérias foram inoculadas via semente e depois pulverizadas via foliar no estádio V₄₋₃ e V₄₋₆, sempre na dose de 500 mL ha⁻¹. A multiplicação das bactérias para

produção do inoculante foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Solo da UNESP – Campus de Jaboticabal, cujas condições de produção são as mesmas citadas para estas bactérias no Capítulo 1. Todos os inoculantes bacterianos apresentavam concentração mínima de 1×10^7 unidades formadoras de colônia (UFC) mL^{-1} .

Os tratamentos com FMA foram inoculados com $0,5 \text{ kg ha}^{-1}$ de inoculante sólido da espécie *R. clarum* (linhagem A5) produzido pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner e contendo 15 esporos por grama, totalizando 7500 esporos por ha. Para melhor aderência do inoculante sólido de FMA, foi utilizada solução adesiva de goma arábica (40%) na dose de 300 mL ha^{-1} . Nos tratamentos não inoculados com FMA, utilizou-se apenas a solução adesiva de goma arábica.

4.2.3 Condução do experimento

Anteriormente ao cultivo do feijão, foi realizado o cultivo de milho, com os mesmos tratamentos nas mesmas parcelas, permitindo a observação dos efeitos da inoculação ao longo de quatro cultivos inoculados. Desse modo, os tratamentos foram aplicados no milho de verão 2021/22, em seguida no feijão de inverno em 2022, depois novamente no milho (safra 2022/23) e por fim, no feijão de inverno (safra 2023).

Como informado no capítulo anterior, o primeiro cultivo de milho foi realizado entre dezembro de 2021 e abril de 2022, então em maio de 2022, instalou-se o primeiro ciclo de cultivo de feijão. No dia 03/05/2022 foi realizada a adubação e sulcamento das linhas de semeadura da área, utilizando-se semeadora mecanizada para plantio direto regulada com dose de 150 kg ha^{-1} de 08-28-16 (NPK), tomando por base as recomendações de Wutke *et al.* (2022).

Previamente à semeadura, no dia 04/05/2022, as sementes de feijão foram tratadas com piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil (5,0+45,0+50 g por 100 kg de sementes) e após secagem, foram inoculadas com seus respectivos tratamentos. Após a inoculação, as sementes foram secas à sombra e semeadas em campo com auxílio de semeadoras manuais. A semeadura foi realizada objetivando-se 10 sementes por metro na linha de semeadura. No dia seguinte, a área foi irrigada com sistema fixo de irrigação do tipo aspersão com precipitação média de 15 mm hora^{-1} nos aspersores. A partir de então, o fornecimento de água da cultura continuou sendo realizado conforme a necessidade hídrica da mesma.

A emergência da cultura ocorreu de forma homogênea no dia 10/05/2022. A aplicação foliar dos inoculantes foi realizada nos estádios V₄₋₃ e V₄₋₆, nos dias 19/05/2022 e 01/06/2022, na dose de 500 mL ha⁻¹ e com volume de calda de 250 L ha⁻¹, utilizando-se pulverizador costal elétrico com pressão constante. A adubação de cobertura foi realizada no dia 03/06/2022, ou seja, aos 24 dias após a emergência (DAE), sendo aplicados 60 kg ha⁻¹ de N tendo como fonte a ureia, seguindo a recomendação de Wutke *et al.* (2022). O florescimento da cultura ocorreu em 21/06/2022 aos 40 DAE. A colheita dos grãos foi realizada no dia 05/08/2022, aos 87 DAE.

Após a colheita do feijão, a área foi semeada com milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) para formação de cobertura vegetal e em novembro foi realizada a semeadura do segundo cultivo de milho (safra 2022/23). Em março/23 foi realizada a colheita do milho e em maio/23 instalou-se o segundo ciclo de cultivo de feijão, conforme Quadro 1 do Capítulo 2.

A adubação e semeadura do segundo cultivo de feijão foram realizadas da mesma forma que no ano anterior. A adubação e demarcação das linhas de semeadura foram realizadas em 09/05/2023, com a aplicação de 300 kg ha⁻¹ de 08-28-16 (NPK). No dia 10/05/2023, foi realizado o tratamento químico das sementes, inoculação e semeadura da mesma forma que no ciclo anterior. No dia seguinte, a área foi irrigada e o fornecimento de água da cultura continuou sendo realizado conforme a necessidade hídrica da mesma.

A emergência da cultura se deu de forma homogênea no dia 18/05/2023. A aplicação foliar dos inoculantes foi realizada nos estádios V₄₋₃ e V₄₋₆, nos dias 25/05/2023 e 16/06/2023 (dose de 500 mL ha⁻¹ e volume de calda de 250 L ha⁻¹). A adubação de cobertura foi realizada de forma parcelada nos dias 06/06/2023 (19 DAE), com aplicação de 33 kg ha⁻¹ de N tendo como fonte o sulfato de amônio e 34 kg ha⁻¹ de K₂O tendo como fonte o KCl. A segunda adubação foi realizada no dia 18/06/2023 (31 DAE), sendo aplicados 66 kg ha⁻¹ de N tendo como fonte a ureia, totalizando 100 kg ha⁻¹ de N aplicados. O florescimento da cultura ocorreu em 03/07/2023 aos 46 DAE. A colheita dos grãos foi realizada no dia 11/08/2023, aos 85 DAE.

O controle de pragas, doenças e plantas daninhas foi realizado com inseticidas, fungicidas e herbicidas recomendados para o feijoeiro nos dois anos do experimento.

4.2.4 Avaliações

Nos dois anos de experimento, por ocasião do florescimento da cultura (estádio R₆), foram determinados em 10 plantas por parcela o índice de clorofila foliar (ICF), com leituras da última folha totalmente expandida e a massa seca da parte aérea (MSPA). As raízes das plantas também foram coletadas para determinação da colonização micorrízica das raízes de acordo com metodologia de Novais *et al.* (2017). Após a pesagem da MSPA, as plantas secas foram moídas em moinho tipo Willey e determinaram-se os teores de macro e micronutrientes na planta (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, ferro - Fe, cobre - Cu, manganês - Mn e zinco - Zn), de acordo com metodologia de Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). Em seguida, calculou-se o acúmulo de nutrientes na parte aérea, com a multiplicação dos teores pela massa seca da parte aérea e convertendo os valores para g planta⁻¹ e mg planta⁻¹, para macro e micronutrientes, respectivamente.

Após a maturidade dos grãos, foram avaliados o número de vagens e de grãos por planta e número de grãos por vagem de 10 plantas por parcela; massa de 100 grãos, com a contagem e pesagem de duas amostras de 100 grãos por parcela, cuja média da parcela foi padronizada para 13% de umidade - base úmida (b.u.); produtividade de grãos, por meio da colheita manual de duas linhas de três metros da parcela, que foram secas a pleno sol, trilhadas e, em seguida, realizou-se a pesagem e determinação de umidade dos grãos colhidos, para cálculo da produtividade (padronizada à 13% b.u.). O número de plantas foi determinado durante a colheita para cálculo da população final de plantas por hectare.

Foi realizado o teste qualitativo de rendimento de peneiras. Para isso, os grãos foram classificados em tamanho pela passagem com agitação manual em conjunto de peneiras de crivos oblongos 10/64" x 3/4 (4,23 x 19,05 mm), 11/64" x 3/4 (4,37 x 19,05 mm), 12/64" x 3/4 (4,76 x 19,05 mm), 13/64" x 3/4 (5,16 x 19,05 mm), 14/64" x 3/4 (5,56 x 19,05 mm), denominadas RP10, RP11, RP12, RP13 e RP14, respectivamente. O percentual de grãos retidos foi calculado pela relação entre o peso dos grãos retidos em cada peneira e o peso da amostra total de cada repetição.

Por fim, amostras representativas dos grãos colhidos de cada parcela foram secas em estufa (65 °C) e moídas em moinho tipo Willey para determinação dos teores de macro e micronutrientes nos grãos (Malavolta; Vitti; Oliveira, 1997). Os valores de produtividade de cada parcela foram multiplicados pelos teores de cada nutriente para

determinação da exportação de nutrientes em kg ha⁻¹ e g ha⁻¹ para macro e micronutrientes, respectivamente.

4.2.5 Análise estatística dos dados de crescimento, produtividade e nutrição

Os dados referentes aos componentes de produção, produtividade, teor e acúmulo de nutrientes na planta, teor e exportação de nutrientes nos grãos e rendimento de peneiras foram analisados conjuntamente considerando-se os dois anos de experimento como uma subdivisão no tempo (Pimentel-Gomes, 2022). Assim, a Análise de Variância (ANAVA) foi realizada e, quando houve significância ($p < 0,05$) para o fator BPCP, foi realizado o teste de comparação de médias Scott-Knott (5%), enquanto para o fator FMA, o teste F da ANAVA foi conclusivo por serem somente dois tratamentos. Não foi realizada comparação das médias entre anos, já que as diferenças entre os dois anos de cultivo podem decorrer de variações ambientais. A análise estatística foi realizada utilizando o software SISVAR® (Ferreira, 2019). Também foram realizadas análises de componentes principais (PCA) utilizando o software R.

4.2.6 Análises de comunidades microbianas

No segundo cultivo de feijão, por ocasião do florescimento da cultura, foram coletadas raízes de feijão da camada superficial de solo (0,0-0,20 m) de dez plantas de cada tratamento experimental para a caracterização da comunidade microbiana das raízes. Essas coletas foram realizadas apenas para o tratamento testemunha não inoculada, inoculação com *Az. brasilense* (muito utilizada na cultura do feijão) e as duas melhores inoculações bacterianas segundo estudo anterior (Capítulo 1), *N. amazonense* e *Bur. vietnamiensis*, todos com e sem a inoculação de *R. clarum*. Dessa forma, foram coletadas amostras de oito tratamentos diferentes em três blocos, resultando em 24 amostras.

Assim como no capítulo anterior, as raízes coletadas foram lavadas, congeladas em N líquido e armazenadas em ultrafreezer à -70 °C. Em seguida, foram maceradas com N líquido e submetidas ao processo de extração do DNA utilizando-se o kit DNeasy PowerSoil Pro – QIAGEN. A empresa NOVOGENE – USA foi contratada para realizar o sequenciamento dos amplicons das regiões 16S, ITS1 e 28S do rDNA. Os primers utilizados para a caracterização das comunidades bacterianas foram: 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') e 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')

para a região V3/V4 do 16S; para as comunidades fúngicas ITS1F (5-CTTGGTCATT-TAGAGGAAGTAA-3') e ITS2 (5-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'), na região ITS1; e para caracterizar mais especificamente as comunidades micorrízicas, os primers FLR3 (5-TTGAAAGGGAAACGATTGAAGT-3') e FLR4 (5-TACGTCAACATCCT-TAACGAA-3'), na região do domínio 2 do 28S.

4.2.7 Análise de bioinformática

Todo o processamento de dados e as análises descritivas e estatísticas do microbioma das raízes de feijão foram realizados da mesma forma como descrito no capítulo anterior para os dados referentes às raízes de milho.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Componentes de produção e produtividade

Houve significância para o fator Anos após análise conjunta considerando os fatores BPCP e FMA e as parcelas subdivididas no tempo em algumas variáveis da cultura do feijão. Como essa variação era esperada em função dos fatores ambientais não controlados, não foi objetivo deste trabalho realizar a comparação das médias dos dois anos.

Após a inoculação com as BPCP e FMA, o ICF, a MSPA e a colonização radicular das plantas de feijão não foram influenciadas pelos tratamentos nos dois anos de experimento (Tabela 4.2).

O número de vagens por planta (NVPP) foi influenciado pelas inoculações bacterianas, de modo que a inoculação com *Bur. vietnamiensis* resultou em maior número de vagens que as inoculações com outras BPCP, com um incremento de 21,85% em relação ao tratamento testemunha não inoculada. Houve interação entre as BPCP e Anos para o número de grãos por planta (NGPP). Em 2022 não houve diferença entre os tratamentos, mas em 2023, a inoculação com *Bur. vietnamiensis* resultou em maior NGPP, com 35,64% a mais em relação à testemunha não inoculada (Figura 4.1).

Por fim, o número de grãos por vagem (NGPV) foi influenciado pela interação entre as inoculações bacteriana e micorrízica. Sem a adição de *R. clarum*, não houve diferenças entre as bactérias inoculadas e o controle. Na presença de *R. clarum*, os maiores NGPV foram encontrados com a inoculação de *Azot. beijerinckii*, *B. aryabhattai* e *N.*

amazonense. Quando as plantas que receberam *B. amyloliquefaciens* não foram coinoculadas com FMA, verificou-se maior NGPV, enquanto que a coinoculação de *N. amazonense* e FMA incrementou o NGPV (Figura 4.2). Ressalta-se que essa variável foi incrementada em no máximo 0,3 NGPV, ou seja, em 6,0%.

Houve interação tripla para a população final de plantas, cujo desdobramento indica que em 2022, dentro do tratamento de *A. macrocytogenes*, a coinoculação de FMA resultou em uma população final 13,8% maior que sem FMA inoculado (Tabela 4.3). Ainda em 2022, a coinoculação de FMA com as bactérias *Az. brasilense*, *A. macrocytogenes* e *B. amyloliquefaciens* resultou em maiores valores para a variável, chegando a um incremento máximo de 10,4% em relação ao tratamento controle no caso de *A. macrocytogenes*. Em 2023, as diferenças foram desconsideradas por serem decorrentes de um erro no processo de semeadura. Isso levou à correção dos outros componentes de produção e produtividade pelo método da covariância, para suprimir diferenças decorrentes da alteração populacional durante o processo de semeadura.

A massa de cem grãos não foi influenciada pelas inoculações realizadas nos dois anos do experimento. A produtividade, por sua vez, foi beneficiada pela inoculação micorrízica dentro do ano de 2022, com incremento de 6,7% em relação ao tratamento não inoculado, o que correspondeu à 200 kg ha⁻¹ a mais decorrentes da inoculação (Figura 4.3).

O teste de retenção em peneiras realizado mostrou resultado influenciado pela inoculação bacteriana, independente do ano de cultivo, apenas no que se refere à porcentagem de sementes retidas no fundo do jogo de peneiras (Tabela Suplementar S4.2). As bactérias *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai*, *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense* levaram à aumento nessa variável em relação aos outros tratamentos, com incremento máximo de 46,35% (*B. aryabhattai* em relação à testemunha não inoculada).

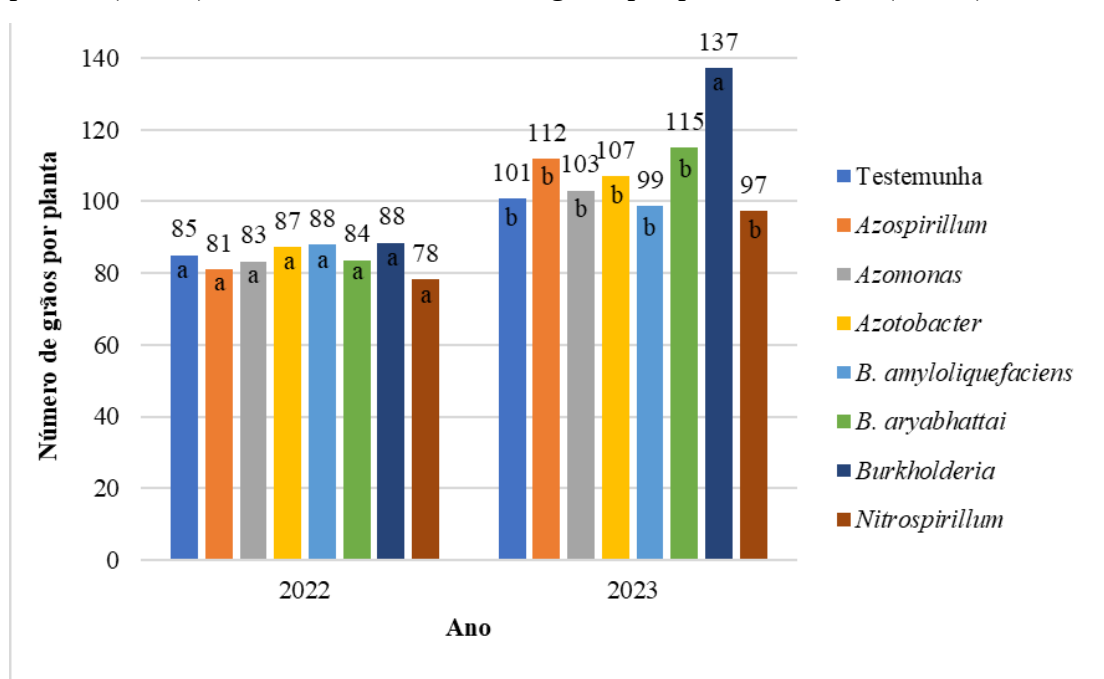
Tabela 4.2 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para índice de clorofila foliar (ICF), matéria seca da parte aérea (MSPA), colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (Colon), número de vagens por planta (NVPP), número de grãos por planta (NGPP), número de grãos por vagem (NGPV) população final de plantas (POPF), massa de cem grãos (MCEMG) e produtividade (PRODUT) na cultura do feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	ICF	MSPA	Colon	NVPP	NGPP	NGPV	POPF	MCEMG	PRODUT
	p-valor								
BPCP	0,706	0,073	0,266	0,035	0,044	0,842	<0,001	0,290	0,412
FMA	0,977	0,271	0,784	0,208	0,288	0,928	0,612	0,606	0,259
BPCP x FMA	0,347	0,689	0,945	0,734	0,706	0,024	<0,001	0,906	0,077
Anos (A)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,474	0,422	0,193	<0,001
A x BPCP	0,103	0,113	0,348	0,055	0,046	0,574	0,001	0,090	0,079
A x FMA	0,095	0,668	0,696	0,959	0,525	0,210	0,526	0,256	0,007
A x BPCP x FMA	0,133	0,121	0,598	0,307	0,116	0,097	0,033	0,958	0,377
2) Médias	ICF	MSPA	Colon	NVPP	NGPP	NGPV	POPF	MCEMG	PRODUT
BPCP	-	g planta ⁻¹	%	-----	número	-----	Plantas ha ⁻¹	g	kg ha ⁻¹
Testemunha	39,64	10,41	23,42	17,94 b	92,84	5,18	191435	22,26	3122
<i>Azospirillum brasilense</i>	39,49	11,85	23,62	18,68 b	96,53	5,17	187130	22,59	3174
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	38,75	10,31	21,79	18,21 b	93,16	5,13	206576	22,18	2993
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	39,29	11,21	17,77	18,53 b	97,13	5,23	183565	22,01	3166
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	39,37	11,61	18,22	18,53 b	93,37	5,16	191435	22,56	3126
<i>Bacillus aryabhattai</i>	39,15	11,27	16,28	18,84 b	99,33	5,27	184259	22,60	3251
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	39,02	12,93	18,18	21,86 a	112,79	5,16	161574	22,48	3174
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	38,71	10,72	17,73	16,95 b	87,82	5,18	195093	21,92	3133
FMA (<i>Rhizoglossum clarum</i>)									
Ausente	39,17	11,53	19,87	18,28	94,76	5,18	186846	22,28	3114
Presente	39,18	11,05	19,38	19,10	98,48	5,19	188420	22,37	3171
Média geral	39,18	11,29	19,63	18,69	96,62	5,18	187633	22,33	3142
CV1(%)	4,23	21,44	43,61	19,43	20,23	4,80	9,28	4,33	9,09
CV2(%)	4,04	20,00	47,80	16,71	16,61	5,09	9,60	4,99	8,63

Nota: CV1 e CV2 (%): coeficientes de variação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si segundo o teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

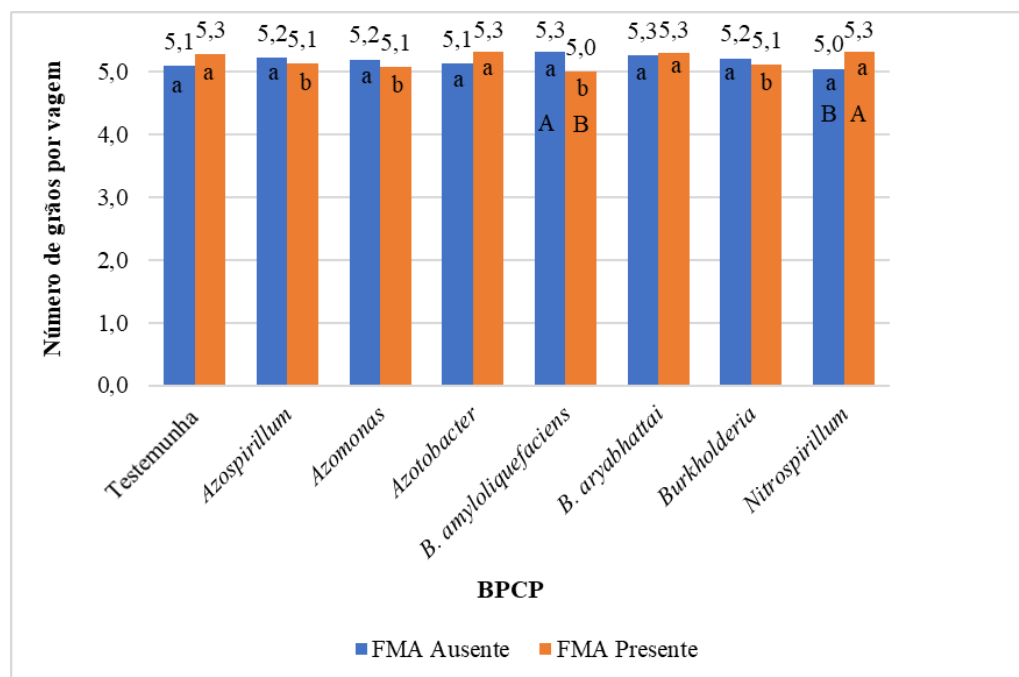
Figura 4.1 Desdobramento da interação entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos sobre o número de grãos por planta de feijão (NGPP)



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 4.2 Desdobramento da interação entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossum clarum* sobre o número de grãos por vagem de feijão (NGPV)



Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas dentro de cada inoculação com FMA e maiúsculas dentro de cada BPCP, não diferem entre si pelo teste F e pelo teste de Scott-Knott (5%), respectivamente.

Fonte: Dados do próprio autor.

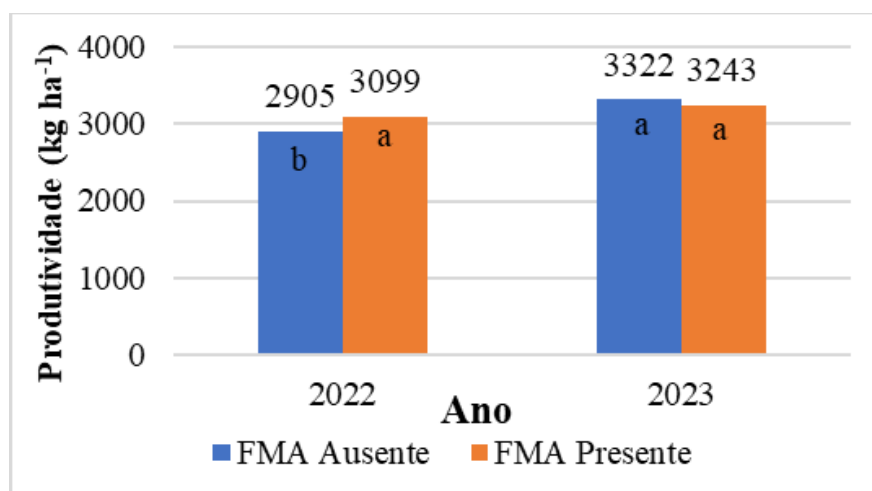
Tabela 4.3 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Rhizoglossus clarum* (FMA) e os anos de experimento sobre a população final de plantas de feijão (plantas ha⁻¹)

ANO	2022		2023	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	192593	189815 b	200926 a	182407 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	183241	203241 a	148148 b B	213889 a A
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	184259 B	209636 a A	201852 a B	230556 a A
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	187963	184259 b	201852 a A	160185 c B
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	178704	201852 a	179630 a B	205556 a A
<i>Bacillus aryabhatai</i>	198148	188889 b	200000 a A	150000 c B
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	186111	167593 b	149074 b	143519 c
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	185930	180556 b	211111 a	202778 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada ano, não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 4.3 Desdobramento da interação entre a inoculação com *Rhizoglossus clarum* (FMA) e os anos de experimento sobre a produtividade de feijão (kg ha⁻¹)



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

4.3.2 Nutrição de plantas

Quanto aos aspectos nutricionais da planta, houve significância da interação Anos x FMA para o teor de N na planta de feijão e da interação tripla BPCP x FMA x Anos para o teor de Ca (Tabela 4.4). Porém quando os dados foram analisados individualmente para cada ano de cultivo, não se observaram diferenças significativas entre os diferentes tratamentos microbianos (Tabelas Suplementares S4.3 e S4.4).

Para o acúmulo de nutrientes na parte aérea, houve interação tripla para o acúmulo de N (Tabela 4.5). O desdobramento indica que no ano de 2022 e nas plantas inoculadas com *B. aryabhatai*, houve acúmulo de N 47,7% maior no tratamento com FMA (Tabela

4.6). Ainda em 2022, não houve diferenças entre as inoculações bacterianas. Em 2023, nas plantas não inoculadas com *R. clarum*, as aplicações das bactérias *Az. brasilense*, *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens* e *Bur. vietnamiensis* resultaram em maior acúmulo de N na parte aérea, com aumento de até 38,7% no caso de *Bur. vietnamiensis* em relação à testemunha não inoculada com BPCP. No mesmo ano, nas plantas inoculadas com *R. clarum*, os maiores acúmulos foram observados quando se coinoculou *Az. brasilense*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis*, com até 26,6% a mais (*Bur. vietnamiensis* x controle).

Também houve interação tripla para o acúmulo de P na parte aérea, de modo que em 2022, não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 4.7). Por outro lado, em 2023, nas plantas inoculadas com *R. clarum*, verificou-se maior acúmulo de P nas coinoculações com *Az. brasilense*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis*, chegando ao aumento máximo de 36,5% (*Bur. vietnamiensis* em relação à testemunha não inoculada com BPCP).

O acúmulo de Cu foi influenciado pelas inoculações bacterianas, de modo que *Bur. vietnamiensis* resultou no maior acúmulo, com 27,4% a mais em relação à testemunha não inoculada com BPCP. Houve interação tripla para o acúmulo de Zn, sendo que em 2022, nas plantas inoculadas com *R. clarum*, houve maior acúmulo desse micronutriente nos tratamentos não inoculado e inoculados com *Az. brasilense*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai*, *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense* (Tabela 4.8). Porém, nas plantas inoculadas com *R. clarum*, apenas as bactérias *Azot. beijerinckii* e *B. amyloliquefaciens* aumentaram o acúmulo de Zn em relação à testemunha não inoculada com BPCP, em 42,6% e 31,7%, respectivamente. Ainda em 2022, nas plantas coinoculadas com *Azot. beijerinckii* e FMA, houve aumento do acúmulo de Zn em 39,8% em relação às plantas inoculadas apenas com a bactéria. Já nas plantas inoculadas com *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis*, os maiores acúmulos foram no tratamento sem FMA (43,2% e 33,6% maiores, respectivamente).

Tabela 4.4 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para teores de nutrientes (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, cobre - Cu, ferro - Fe, manganês - Mn e zinco - Zn) em plantas de feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
	p-valor									
BPCP	0,994	0,281	0,935	0,557	0,517	0,366	0,384	0,886	0,661	0,725
FMA	0,645	0,151	0,995	0,895	0,297	0,636	0,701	0,865	0,612	0,273
BPCP x FMA	0,870	0,504	0,547	0,830	0,993	0,162	0,824	0,467	0,636	0,728
Anos (A)	0,301	0,007	<0,001	<0,001	<0,001	0,013	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
A x BPCP	0,705	0,977	0,973	0,720	0,261	0,989	0,499	0,655	0,778	0,664
A x FMA	0,027	0,636	0,685	0,378	0,223	0,771	0,301	0,366	0,871	0,532
A x BPCP x FMA	0,935	0,356	0,586	0,032	0,150	0,941	0,770	0,138	0,176	0,055
2) Médias	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
BPCP	----- g kg ⁻¹ -----					----- mg kg ⁻¹ -----				
Testemunha	40,09	3,17	33,60	16,09	7,02	4,53	16,06	915,56	417,63	96,38
<i>Azospirillum brasilense</i>	40,02	3,28	34,22	15,14	6,98	4,67	17,31	855,00	423,69	99,81
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	39,81	3,03	33,32	15,31	6,97	4,21	15,59	927,25	449,13	96,25
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	40,05	3,32	34,44	16,40	7,17	4,45	15,11	927,06	454,50	101,56
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	39,41	3,12	33,42	15,81	7,02	4,20	15,51	973,94	414,38	103,25
<i>Bacillus aryabhattai</i>	39,19	3,24	34,11	15,88	7,05	4,30	14,95	920,81	441,25	99,81
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	40,00	3,11	34,19	15,54	7,03	4,33	17,38	1014,13	447,50	100,06
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	40,25	3,12	34,36	15,14	6,89	4,16	13,09	906,75	443,06	100,38
FMA (<i>Rhizoglosum clarum</i>)										
Ausente	40,01	3,13	33,96	15,64	6,98	4,38	15,45	925,66	433,08	98,52
Presente	39,70	3,22	33,96	15,69	7,05	4,33	15,80	934,47	439,70	100,86
Média geral	39,85	3,17	33,96	15,66	7,02	4,35	15,63	930,06	436,39	99,69
CV1(%)	9,58	10,72	9,01	12,82	4,66	15,53	33,69	31,27	16,80	11,99
CV2(%)	7,13	11,57	7,87	10,02	3,61	17,47	28,68	33,06	15,92	11,83

Nota: CV1 e CV2 (%): coeficientes de variação.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela 4.5 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para acúmulo de nutrientes (nitrogênio - AcNitro, fósforo - AcFosf, potássio - AcPotas, cálcio - AcCa, magnésio - AcMg, enxofre - AcEnx, cobre - AcCobre, ferro - AcFe, manganês - AcMn e zinco - AcZinc) na parte aérea de plantas de feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	AcNitro	AcFosf	AcPotas	AcCa	AcMg	AcEnx	AcCobre	AcFe	AcMn	AcZinc
	p-valor									
BPCP	0,060	0,055	0,097	0,375	0,196	0,087	0,011	0,529	0,400	0,028
FMA	0,120	0,874	0,197	0,627	0,411	0,410	0,770	0,296	0,467	0,392
BPCP x FMA	0,846	0,982	0,454	0,731	0,651	0,240	0,699	0,586	0,284	0,373
Anos (A)	<0,001	<0,001	0,096	<0,001	0,736	<0,001	0,192	<0,001	<0,001	<0,001
A x BPCP	0,084	0,025	0,307	0,072	0,065	0,156	0,255	0,826	0,105	0,781
A x FMA	0,583	0,577	0,622	0,285	0,240	0,507	0,781	0,650	0,358	0,037
A x BPCP x FMA	0,030	0,028	0,208	0,076	0,059	0,262	0,580	0,739	0,452	0,034
2) Médias	AcNitro	AcFosf	AcPotas	AcCa	AcMg	AcEnx	AcCobre	AcFe	AcMn	AcZinc
BPCP	g planta ⁻¹					mg planta ⁻¹				
Testemunha	0,42	0,03	0,33	0,17	0,07	0,05	0,15 b	8,09	3,78	0,89
<i>Azospirillum brasilense</i>	0,47	0,04	0,38	0,18	0,08	0,05	0,16 b	8,76	4,13	1,02
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	0,41	0,03	0,32	0,16	0,07	0,04	0,14 b	7,82	3,84	0,85
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	0,45	0,04	0,37	0,18	0,08	0,05	0,16 b	8,49	4,36	1,01
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,46	0,04	0,37	0,18	0,08	0,05	0,17 b	10,23	4,28	1,10
<i>Bacillus aryabhattai</i>	0,44	0,04	0,36	0,18	0,07	0,05	0,15 b	8,40	4,14	0,97
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	0,51	0,04	0,40	0,20	0,08	0,05	0,19 a	9,70	4,69	1,09
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	0,43	0,03	0,36	0,16	0,07	0,04	0,14 b	8,95	4,28	0,95
FMA (<i>Rhizoglosum clarum</i>)										
Ausente	0,46	0,04	0,37	0,18	0,08	0,05	0,16	9,13	4,26	1,00
Presente	0,43	0,04	0,35	0,17	0,07	0,05	0,16	8,48	4,11	0,97
Média geral	0,45	0,04	0,36	0,18	0,07	0,05	0,16	8,81	4,19	0,98
CV1(%)	20,78	22,36	21,34	28,73	24,18	22,92	24,97	39,24	26,77	22,94
CV2(%)	18,21	17,94	20,56	23,00	19,23	22,96	23,97	40,18	22,64	19,07

Nota: CV1 e CV2 (%): coeficientes de variação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela 4.6 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Rhizoglosum clarum* (FMA) e os anos de experimento sobre o acúmulo de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão (g planta⁻¹)

ANO	2022		2023	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	0,34 a	0,30 a	0,50 b	0,51 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	0,35 a	0,33 a	0,59 a	0,62 a
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	0,28 a	0,31 a	0,53 b	0,49 b
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	0,29 a	0,38 a	0,59 a	0,53 b
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,35 a	0,39 a	0,63 a	0,46 b
<i>Bacillus aryabhattai</i>	0,39 aA	0,26 aB	0,52 b	0,59 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	0,40 a	0,30 a	0,70 a	0,65 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	0,37 a	0,35 a	0,53 b	0,47 b

Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada ano, não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela 4.7 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Rhizoglosum clarum* (FMA) e os anos de experimento sobre o acúmulo de fósforo na parte aérea de plantas de feijão (g planta⁻¹)

ANO	2022		2023	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	0,03 a	0,02 a	0,04 a	0,04 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	0,03 a	0,03 a	0,04 a	0,05 a
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	0,02 a	0,02 a	0,04 a	0,04 b
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	0,02 a	0,03 a	0,05 a	0,04 b
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,03 a	0,03 a	0,04 a	0,04 b
<i>Bacillus aryabhattai</i>	0,03 a	0,02 a	0,04 a	0,05 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	0,03 a	0,02 a	0,05 a	0,05 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	0,03 a	0,03 a	0,04 a	0,04 b

Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada ano, não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela 4.8 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Rhizoglosum clarum* (FMA) e os anos de experimento sobre o acúmulo de zinco na parte aérea de plantas de feijão (mg planta⁻¹)

ANO	2022		2023	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	1,22 a	1,01 b	0,64 a	0,68 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	1,31 a	1,18 b	0,79 a	0,80 a
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	1,06 b	1,06 b	0,67 a	0,63 a
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	1,03 bB	1,44 aA	0,79 a	0,78 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,35 a	1,33 a	0,80 a	0,94 a
<i>Bacillus aryabhattai</i>	1,36 aA	0,95 bB	0,71 a	0,86 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	1,47 aA	1,10 bB	0,90 a	0,91 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	1,30 a	1,18 b	0,66 a	0,64 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada ano, não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

Nos grãos, os teores de macronutrientes não foram influenciados pelos fatores experimentais (Tabela 4.9). Quanto aos micronutrientes, o teor de Cu foi reduzido pela inoculação com *R. clarum*. O teor de Fe nos grãos foi influenciado pelo fator BPCP, sendo maior nas plantas inoculadas com *Azot. beijerinckii*, *B. aryabhattai* e *N. amazonense*, com até 26,12% a mais de Fe com *B. aryabhattai* em relação à testemunha não inoculada com BPCP. Apesar de a interação Anos x FMA ter sido significativa, o desdobramento não demonstrou diferenças entre os tratamentos nos dois anos de experimento (Tabela Suplementar S4.5).

Por fim, a exportação de N pelos grãos foi influenciada pela interação entre os fatores Anos e BPCP (Tabela 4.10), sendo que em 2022 houve maior exportação de N pelos grãos nas plantas inoculadas com *Az. brasilense*, *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis* (Figura 4.4), com incremento máximo de 10,9% no caso de *Az. brasilense* em relação à testemunha não inoculada com BPCP. Em 2023, não houve diferenças entre as inoculações realizadas. O desdobramento da interação entre Anos e FMA indica que em 2022 a inoculação de *R. clarum* aumentou em 6,30% a exportação de N pelos grãos (Figura 4.5). Para K, houve interação entre os fatores Anos e FMA, com exportação de K pelos grãos aumentada em 5,8% em 2022 com a inoculação de *R. clarum* (Figura 4.6).

A exportação de Mg foi influenciada pela interação entre os fatores BPCP e FMA, de modo que nas plantas inoculadas com *R. clarum*, a exportação de Mg foi maior no tratamento não inoculado com BPCP e nas inoculações com *Az. brasilense*, *Azot. beijerinckii*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis* (Figura 4.7). Nas plantas não inoculadas com BPCP e nas inoculadas com *Az. brasilense* e *N. amazonense*, a inoculação de *R. clarum* aumentou em 13,0%, 12,6% e 11,1% a exportação de Mg, respectivamente. O desdobramento da interação entre os fatores Anos e FMA demonstra que a exportação de Mg foi 6,0% maior com a inoculação de *R. clarum* em 2022 (Figura 4.8).

Em relação à exportação de micronutrientes, houve interação entre Anos e FMA, com redução de 21,3% na exportação do Cu nas plantas inoculadas com *R. clarum* em 2023, mas não em 2022 (Figura 4.9). Para o Fe, as inoculações com as bactérias *B. aryabhattai* e *N. amazonense* aumentaram a exportação desse nutriente em 36,3% e 14,5% em relação à testemunha não inoculada com BPCP. Por outro lado, houve interação entre Anos e FMA, com a inoculação do fungo aumentando a exportação de Fe em 17,5% em 2022, mas não em 2023 (Figura 4.10).

Tabela 4.9 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para teores de nutrientes (nitrogênio - N, fósforo - P, potássio - K, cálcio - Ca, magnésio - Mg, enxofre - S, cobre - Cu, ferro - Fe, manganês - Mn e zinco - Zn) em grãos de feijão. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
	p-valor									
BPCP	0,191	0,634	0,872	0,731	0,628	0,420	0,303	0,008	0,283	0,725
FMA	0,805	0,353	0,593	0,827	0,647	0,114	0,013	0,802	0,946	0,171
BPCP x FMA	0,387	0,293	0,585	0,445	0,185	0,833	0,335	0,354	0,721	0,438
Anos (A)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
A x BPCP	0,634	0,602	0,525	0,959	0,814	0,799	0,628	0,891	0,218	0,582
A x FMA	0,820	0,354	0,143	0,292	0,606	0,078	0,062	0,035	0,792	0,874
A x BPCP x FMA	0,415	0,963	0,260	0,095	0,428	0,987	0,707	0,744	0,822	0,374
2) Médias	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Mn	Zn
BPCP	----- g kg ⁻¹ -----					----- mg kg ⁻¹ -----				
Testemunha	28,81	3,67	21,00	1,54	4,31	2,30	19,31	177,31 b	38,31	59,19
<i>Azospirillum brasilense</i>	29,72	3,73	20,78	1,41	4,30	2,08	20,13	176,69 b	36,88	61,94
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	28,29	3,74	20,67	1,43	4,26	2,22	23,44	155,50 b	38,75	61,00
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	29,49	3,75	20,74	1,43	4,25	2,15	22,05	195,50 a	36,81	60,00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	29,99	3,71	20,70	1,43	4,30	2,40	21,91	157,44 b	37,38	61,69
<i>Bacillus aryabhattai</i>	29,09	3,73	20,76	1,53	4,29	2,28	22,81	223,63 a	39,25	57,13
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	29,65	3,59	20,62	1,32	4,28	2,27	24,08	141,38 b	36,19	58,63
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	29,20	3,82	20,79	1,47	4,21	2,33	26,80	203,56 a	38,50	63,81
FMA (<i>Rhizoglosum clarum</i>)										
Ausente	29,32	3,69	20,79	1,45	4,28	2,31	24,48 a	177,50	37,73	61,73
Presente	29,24	3,74	20,73	1,44	4,27	2,20	20,65 b	180,25	37,78	59,11
Média geral	29,28	3,72	20,76	1,44	4,27	2,25	22,57	178,88	37,76	60,42
CV1(%)	6,12	8,16	3,29	24,57	3,47	17,61	37,28	34,42	10,24	17,64
CV2(%)	4,99	7,31	2,85	19,73	3,68	19,11	52,25	41,57	11,50	16,52

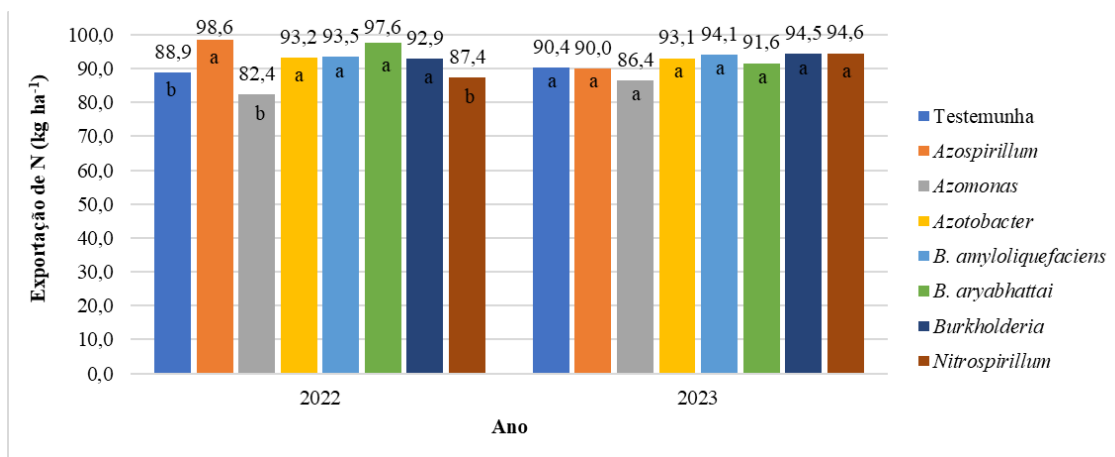
Nota: CV1 e CV2 (%): coeficientes de variação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.
Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela 4.10 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito dos fatores bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para exportação de nutrientes (nitrogênio - ExpNitro, fósforo - ExpFosf, potássio – ExpPotas, cálcio - ExpCa, magnésio - ExpMg, enxofre – ExpEnxof, cobre - ExpCobre, ferro - ExpFe, manganês – ExpMn e zinco - ExpZinc) em grãos de feijão.
2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	ExpNitro	ExpFosf	ExpPotas	ExpCa	ExpMg	ExpEnxof	ExpCobre	ExpFe	ExpMn	ExpZinc
	p-valor									
BPCP	0,114	0,631	0,125	0,398	0,007	0,624	0,173	0,001	0,160	0,858
FMA	0,354	0,096	0,090	0,527	0,013	0,684	0,022	0,589	0,069	0,910
BPCP x FMA	0,122	0,220	0,068	0,517	0,044	0,425	0,350	0,331	0,247	0,728
Anos (A)	0,987	0,010	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
A x BPCP	0,045	0,393	0,081	0,653	0,170	0,892	0,364	0,771	0,101	0,739
A x FMA	0,002	0,094	0,011	0,734	0,020	0,831	0,042	0,012	0,061	0,113
A x BPCP x FMA	0,638	0,832	0,164	0,204	0,398	0,910	0,653	0,766	0,425	0,111
2) Médias	ExpNitro	ExpFosf	ExpPotas	ExpCa	ExpMg	ExpEnxof	ExpCobre	ExpFe	ExpMn	ExpZinc
BPCP	----- kg ha ⁻¹ -----					----- g ha ⁻¹ -----				
Testemunha	89,62	11,43	64,57	4,75	13,07	7,07	61,28	536,51 b	115,84	179,64
<i>Azospirillum brasilense</i>	94,28	11,82	65,73	4,40	13,54	6,61	61,90	561,01 b	116,45	196,29
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	84,42	11,14	60,51	4,17	12,22	6,56	71,03	450,22 b	111,66	176,55
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	93,13	11,81	65,03	4,46	13,25	6,83	68,62	566,20 b	114,65	185,90
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	93,78	11,56	63,67	4,41	13,05	7,40	70,64	481,34 b	113,59	186,99
<i>Bacillus aryabhattai</i>	94,58	12,11	67,32	4,97	13,89	7,38	75,13	731,34 a	127,24	185,06
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	93,67	11,40	64,24	4,13	13,16	7,07	72,07	435,50 b	111,05	180,72
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	90,96	11,85	63,07	4,46	12,36	7,03	87,33	614,30 a	113,86	188,64
FMA (<i>Rhizoglossus clarum</i>)										
Ausente	90,95	11,42	63,34	4,41	12,79	7,04	76,48	537,88	112,90	185,34
Presente	92,66	11,86	65,20	4,53	13,35	6,94	65,52	556,23	118,19	184,61
Média geral	91,80	11,64	64,27	4,47	13,07	6,99	71,00	547,06	115,54	184,98
CV1(%)	11,23	12,39	9,46	24,20	9,36	20,54	36,91	34,82	13,89	19,57
CV2(%)	7,40	10,43	9,12	24,44	12,50	21,13	51,46	42,01	14,93	18,47

Nota: CV1 e CV2 (%): coeficientes de variação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.
Fonte: Dados do próprio autor.

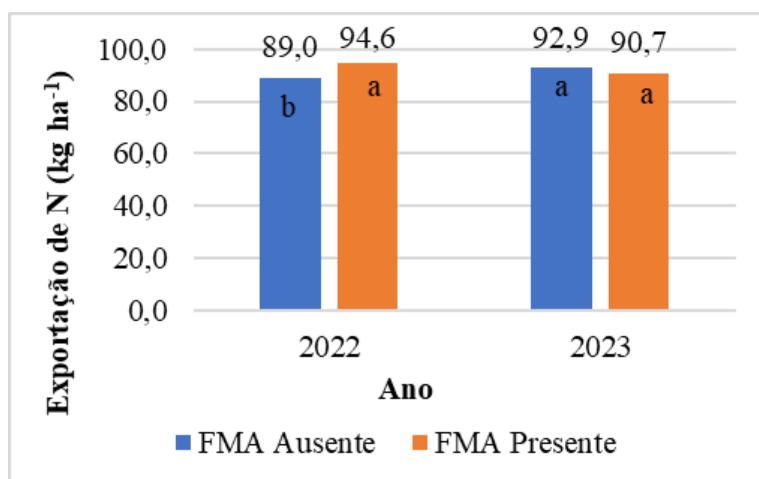
Figura 4.4 Desdobramento da interação entre inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e anos de experimento para exportação de nitrogênio nos grãos de feijão (kg ha^{-1})



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

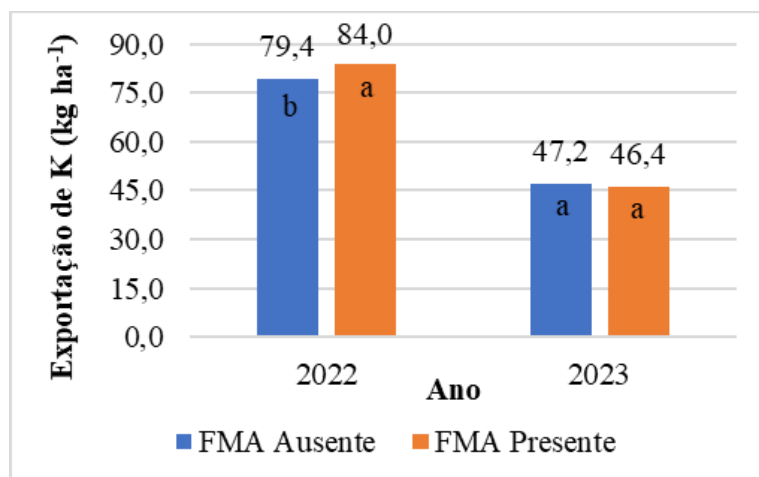
Figura 4.5 Desdobramento da interação entre inoculação com *Rhizoglossus clarum* (FMA) e anos de experimento para exportação de nitrogênio nos grãos de feijão (kg ha^{-1})



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA dentro de cada ano.

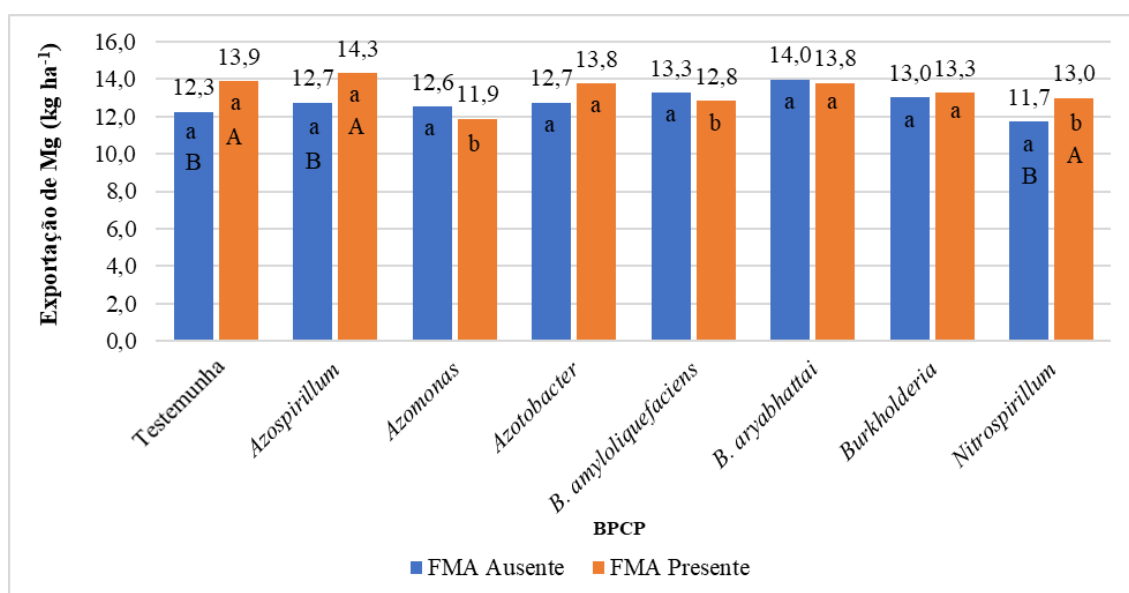
Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 4.6 Desdobramento da interação entre inoculação com *Rhizoglossus clarum* (FMA) e anos de experimento para exportação de potássio nos grãos de feijão (kg ha⁻¹)



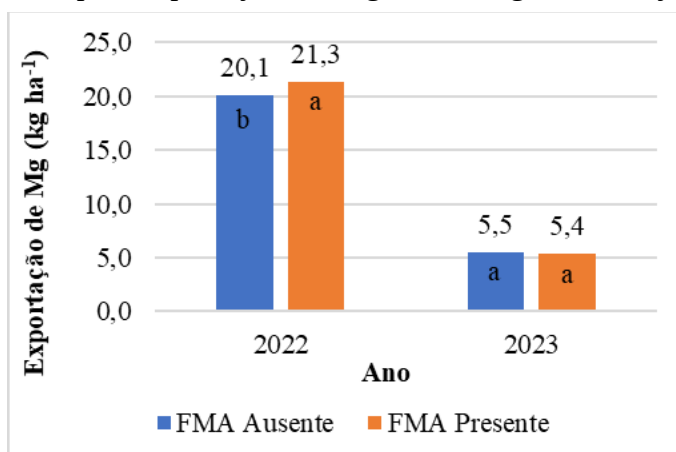
Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA dentro de cada ano.
 Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 4.7 Desdobramento da interação entre inoculações de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossus clarum* (FMA) sobre a exportação de magnésio nos grãos de feijão (kg ha⁻¹)



Nota: Médias seguidas por mesma letra, minúsculas dentro de cada inoculação com FMA e maiúsculas dentro de cada BPCP, não diferem entre si pelo teste F e pelo teste de Scott-Knott (5%), respectivamente.
 Fonte: Dados do próprio autor.

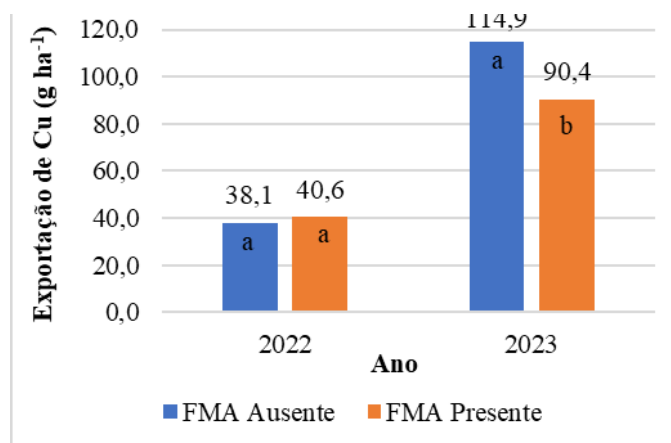
Figura 4.8 Desdobramento da interação entre inoculação de *Rhizoglossus clarum* (FMA) e anos de experimento para exportação de magnésio nos grãos de feijão (kg ha^{-1})



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

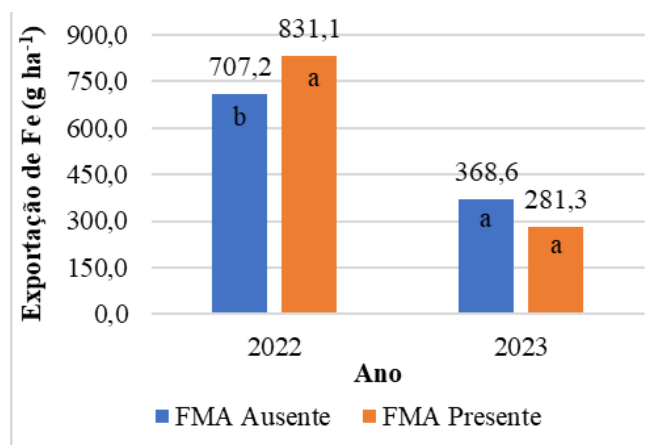
Figura 4.9 Desdobramento da interação entre a inoculação com *Rhizoglossus clarum* (FMA) e os anos de experimento para exportação de cobre nos grãos de feijão (g ha^{-1})



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 4.10 Desdobramento da interação entre a inoculação com *Rhizoglossus clarum* (FMA) e os anos de experimento para exportação de ferro nos grãos de feijão (g ha^{-1})



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F para FMA dentro de cada ano.

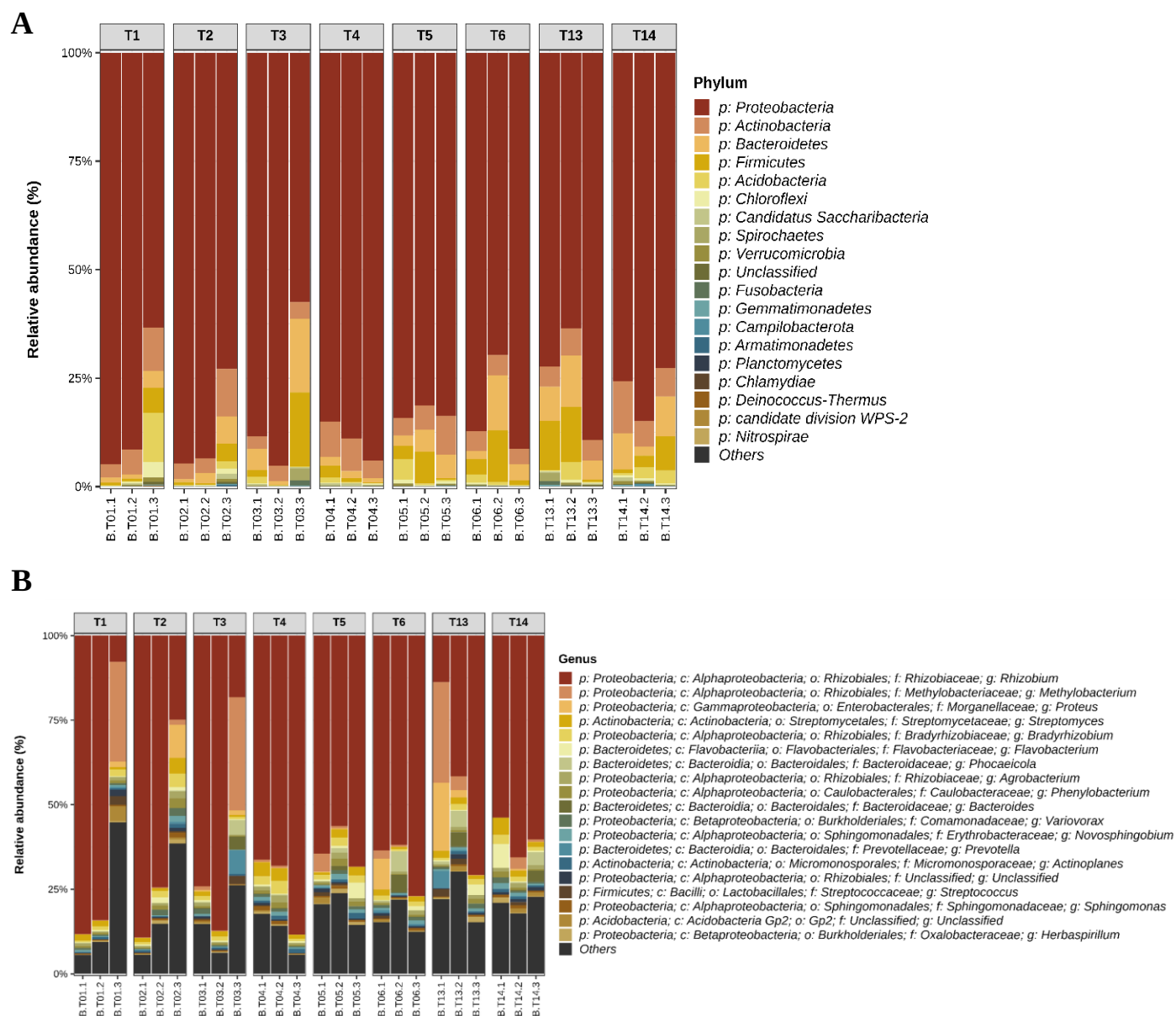
Fonte: Dados do próprio autor.

4.3.3 Comunidades microbianas

O sequenciamento das amostras gerou um total de 4.758.264; 4.766.975 e 4.954.580 leituras para os marcadores genéticos nas regiões 16S, ITS1 e 28S, respectivamente, distribuídos entre as 24 amostras analisadas. Após o controle de qualidade, reteve-se um total de 2.095.932; 3.419.710 e 3.466.494 leituras, ou seja, com aproveitamentos de 43,22%, 71,42% e 69,97% das leituras sequenciadas para cada um dos marcadores, respetivamente. As leituras resultantes foram suficientes para capturar a maior parte da diversidade das amostras, uma vez que se nota a estabilização das curvas de rarefação (Figura Suplementar S4.2). As leituras obtidas resultaram em 7.197, 1.969 e 3.058 OTUs para bactérias, fungos totais e FMA, respectivamente. No processo de atribuição taxonômica, foi possível classificar até o nível de gênero 95,04%, 81,71% e 49,60% das sequências de bactérias, fungos totais e FMA, respectivamente.

O perfil taxonômico das bactérias encontrado indica que o filo Proteobacteria foi predominante nas raízes de feijão, com abundância relativa média de 82,31% (Figura 4.11A) e que os gêneros mais abundantes são *Rhizobium*, *Methylobacterium*, *Proteus*, *Streptomyces* e *Bradyrhizobium*, cada um com uma abundância relativa média de 61,15%, 4,80%, 1,94%, 1,91% e 1,61%, respectivamente (Figuras 4.11B). Quanto ao perfil taxonômico de fungos totais, houve uma maior abundância relativa do filo Ascomycota (61,63%, Figura 4.12A), entre os quais os gêneros *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Clonostachys*, *Marasmius* e *Atractiella*, com abundâncias relativas médias de 31,40%, 8,31%, 3,18%, 3,15% e 2,88%, respectivamente (Figura 4.12B). Finalmente, o perfil taxonômico dos FMA (Filo Glomeromycota) indicou uma predominância dos gêneros *Rhizophagus*, *Funneliformis*, *Claroideoglomus*, *Septoglomus* e *Microdominikia*, com abundâncias relativas de 14,15%, 12,56%, 7,16%, 6,05% e 1,89%, respectivamente (Figura 4.13).

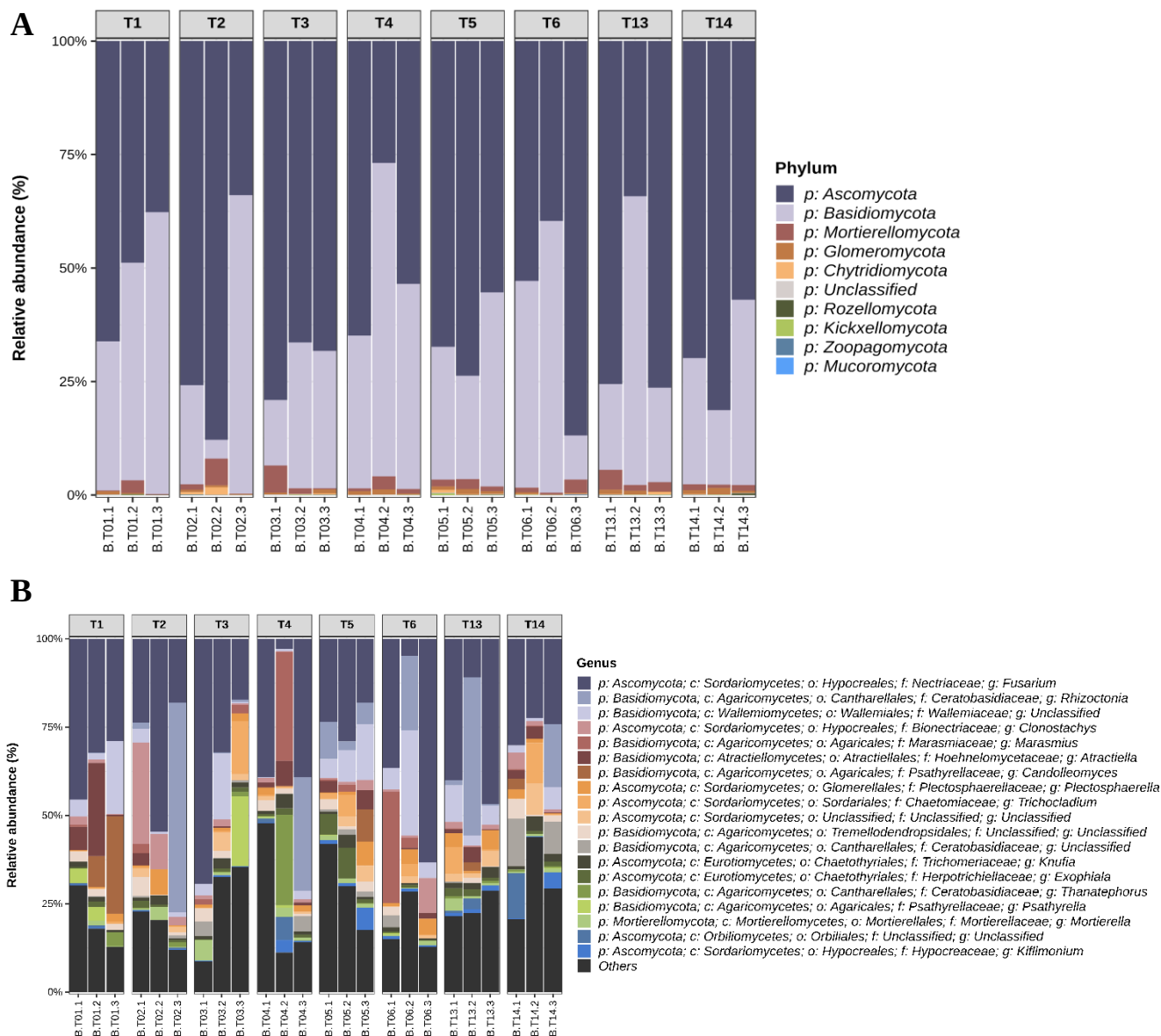
Figura 4.11 Composição da comunidade bacteriana (A - filos e B - gêneros) em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglossum clarum*



T01, T02, T03, T04, T05, T06, T13, T14: tratamento testemunha não inoculada com BPCP, inoculação com *Rhizoglossum clarum*, *Nitrospirillum amazonense*, *N. amazonense* + *R. clarum*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Bur. vietnamiensis* + *R. clarum*, *Azospirillum brasilense*, *Az. brasilense* + *R. clarum*, respectivamente. B.T01.1; B.T01.2; B.T01.3: comunidade microbiana das raízes de feijão nas repetições 1, 2 e 3 do tratamento T01, respectivamente.

Fonte: Dados do próprio autor.

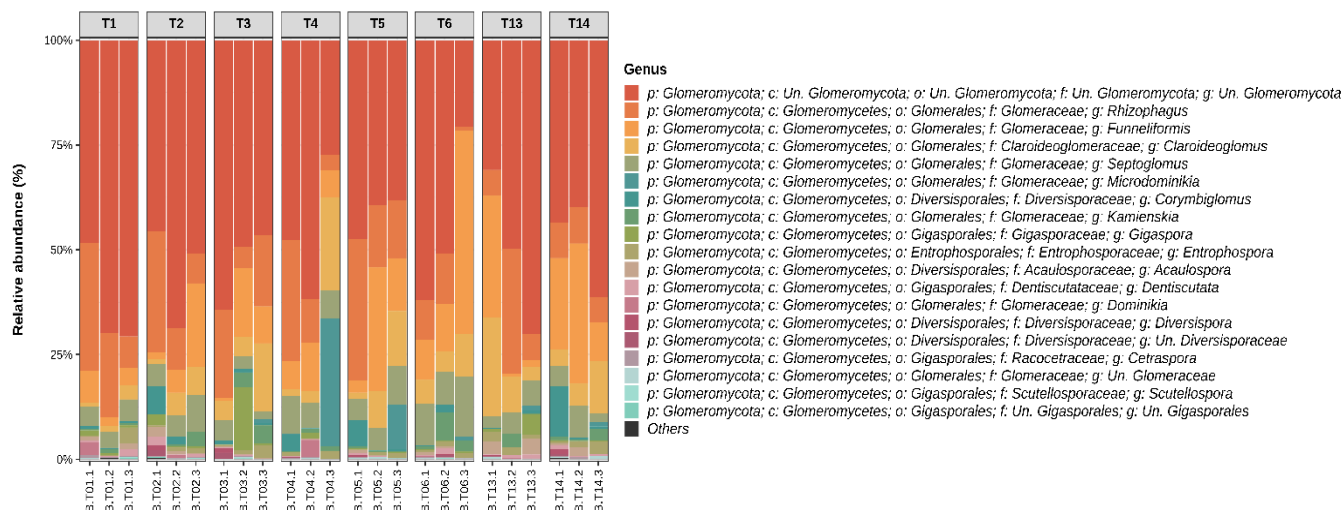
Figura 4.12 Composição da comunidade fúngica (A - filos e B - gêneros) em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglyphus clarum*



T01, T02, T03, T04, T05, T06, T13, T14: tratamento testemunha não inoculada com BPCP, inoculação com *Rhizoglyphus clarum*, *Nitrospirillum amazonense*, *N. amazonense* + *R. clarum*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Bur. vietnamiensis* + *R. clarum*, *Azospirillum brasilense*, *Az. brasilense* + *R. clarum*, respectivamente. B.T01.1; B.T01.2; B.T01.3: comunidade microbiana das raízes de feijão nas repetições 1, 2 e 3 do tratamento T01, respectivamente.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 4.13 Composição de gêneros da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglyphus clarum*



T01, T02, T03, T04, T05, T06, T13, T14: tratamento testemunha não inoculada com BPCP, inoculação com *Rhizoglyphus clarum*, *Nitrospirillum amazonense*, *N. amazonense* + *R. clarum*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Bur. vietnamiensis* + *R. clarum*, *Azospirillum brasilense*, *Az. brasilense* + *R. clarum*, respectivamente. B.T01.1; B.T01.2; B.T01.3: comunidade microbiana das raízes de feijão nas repetições 1, 2 e 3 do tratamento T01, respectivamente.

Fonte: Dados do próprio autor.

A análise de alfa-diversidade para as comunidades de bactérias, fungos totais e FMA (Tabela 4.11) não mostrou diferenças para os três índices calculados (riqueza observada, Chao1, Shannon e Gini-Simpson) em função das inoculações com BPCP e com FMA e tampouco para interação entre os dois fatores.

A análise de diversidade beta para OTUs bacterianas, fúngicas e de FMA, realizada por meio de uma PERMANOVA e representada através de uma PCoA baseada nos índices de Bray-Curtis, não demonstrou significância estatística para os dois fatores testados (BAC e FMA), nem para sua interação (Figuras Suplementares S4.3, S4.4, S4.5).

Tabela 4.11 Valores de p da ANAVA de dois fatores realizada para índices de diversidade alfa para as comunidades bacterianas, fúngicas e de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e de *Rhizoglossus clarum* (FMA)

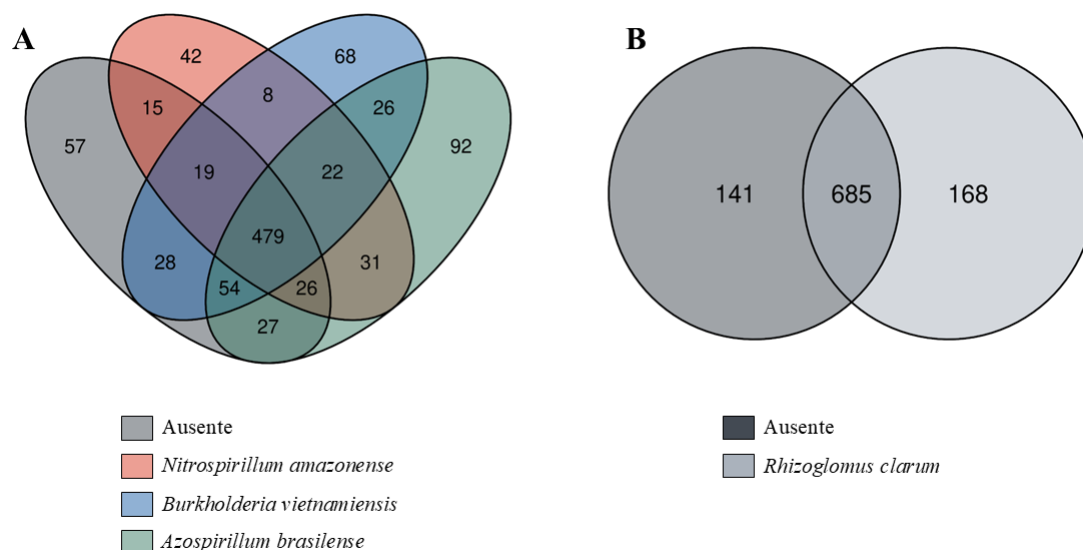
Comunidade bacteriana				
Fator	Riqueza observada	Chao1	Shannon	Gini-Simpson
BPCP (B)	0,241	0,241	0,585	0,487
FMA (F)	0,823	0,823	0,706	0,672
B x F	0,814	0,814	0,971	0,956
Comunidade fúngica				
Fator	Riqueza observada	Chao1	Shannon	Gini-Simpson
BPCP (B)	0,171	0,192	0,270	0,384
FMA (F)	0,678	0,664	0,231	0,304
B x F	0,763	0,873	0,276	0,214
Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares				
Fator	Riqueza observada	Chao1	Shannon	Gini-Simpson
BPCP (B)	0,614	0,600	0,629	0,554
FMA (F)	0,304	0,327	0,195	0,256
B x F	0,971	0,977	0,922	0,956

Fonte: Dados do próprio autor.

De acordo com os diagramas de Venn, as raízes de feijão sob diferentes tratamentos de inoculação bacteriana compartilharam 479 gêneros bacterianos (Figura 4.14). As diferenças entre os tratamentos de BPCP decorreram de gêneros de baixa frequência, destacando-se *Serratia*, *Fimbriimonas* e *Cytophaga* como gêneros exclusivos das raízes de plantas não inoculadas com BPCP; *Sporosarcina*, *Azohydromonas* e *Enterococcus* para o tratamento *Az. brasilense*; *Anaerosinus*, *Daejeonia* e *Moritella* para o *N. amazonense*; *Gemmobacter*, *Oscillochloris* e *Lancefieldella* para *Bur. vietnamiensis*.

Para a inoculação de *R. clarum*, ocorreram 685 gêneros compartilhados entre os tratamentos. A ausência de inoculação com FMA resultou em 141 gêneros exclusivos, com destaque para *Shuttleworthia*, *Kineosporia* e *Rhodoblastus*. A inoculação de FMA, por sua vez, resultou em 168 gêneros exclusivos, ressaltando-se a presença de *Brevifollis*, *Testudinibacter* e *Lacibacter*.

Figura 4.14 Diagramas de Venn representando gêneros bacterianos compartilhados e exclusivos em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e *Rhizoglossomous clarum* (B)

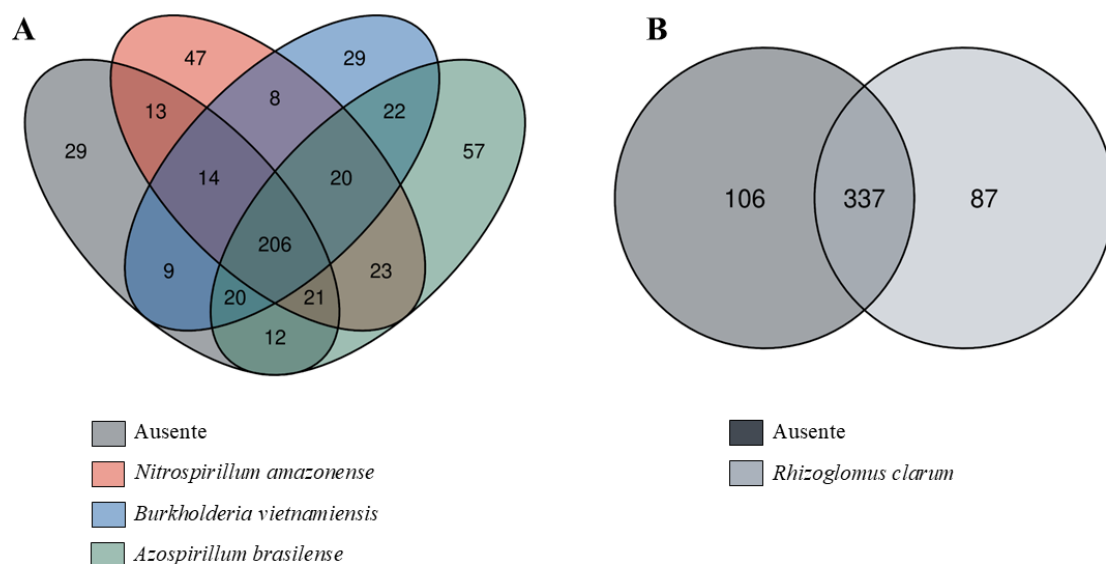


Fonte: Dados do próprio autor.

Por outro lado, os diagramas de Venn demonstram que as raízes de plantas inoculadas com BPCP compartilharam 206 gêneros de fungos (Figura 4.15). No que se refere aos gêneros exclusivos, predominaram *Dactylaria*, *Rhexoacrodictys* e *Teratosphaeria* para testemunha não inoculada com BPCP; *Phyllosticta*, *Spissiomycetes*, e *Buckleyzyma* para *Az. brasilense*; *Monosporascus*, *Porotheleum* e *Nodulisporium* para *N. amazonense*; e *Peroneutypa*, *Lecanicillium* e *Sirobasidium* para *Bur. vietnamiensis*, todos em baixa frequência relativa nas raízes.

Nas raízes das plantas inoculadas com *R. clarum* ocorreram 337 gêneros compartilhados entre os tratamentos. Os gêneros exclusivos nas raízes das plantas não inoculadas com FMA foram 106, com destaque para *Sclerostagonospora*, *Monosporascus*, *Arachnion* e *Sparassis* e nas inoculadas com FMA foram 87, ressaltando-se a presença de *Dactylaria*, *Waitea*, *Parasola* e *Pallidocercospora*.

Figura 4.15 Diagramas de Venn representando gêneros fúngicos compartilhados e exclusivos em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento (A) e *Rhizoglomus clarum* (B)



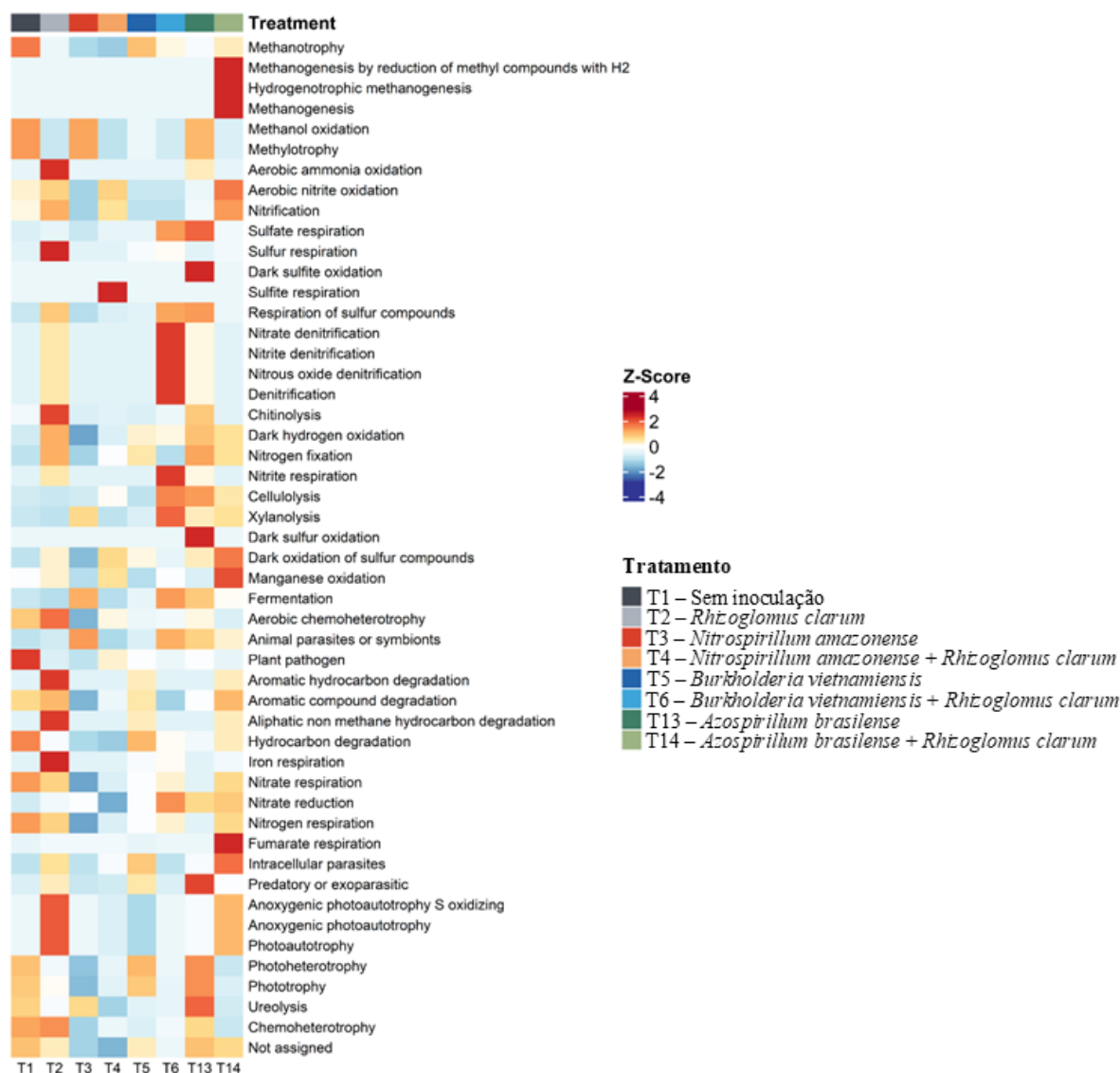
Fonte: Dados do próprio autor.

Os diagramas de Venn referentes aos gêneros de FMA demonstraram que nos diferentes tratamentos de inoculação bacteriana, as raízes de feijão compartilharam 23 gêneros (Figura 4.16). O gênero *Paraglomus* foi o único ausente do tratamento testemunha não inoculada com BPCP, mas compartilhado pelas três inoculações bacterianas. Já *Redeckera* não foi encontrado quando se inoculou *N. amazonense*, mas foi compartilhado entre os outros tratamentos.

Por outro lado, 26 gêneros de FMA foram compartilhados entre as raízes das plantas inoculadas ou não inoculadas com *R. clarum*. Curiosamente, não houve nenhum gênero exclusivo nos tratamentos inoculados, mas dois gêneros não classificados nos tratamentos não inoculados com FMA.

compostos metálicos com H_2 e hidrogenotrófica), a oxidação do manganês e a respiração pela via do fumarato.

Figura 4.17 Funções bacterianas associadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas (conforme a análise FAPROTAX - Functional Annotation of Prokaryotic Taxa) em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizogloium clarum*

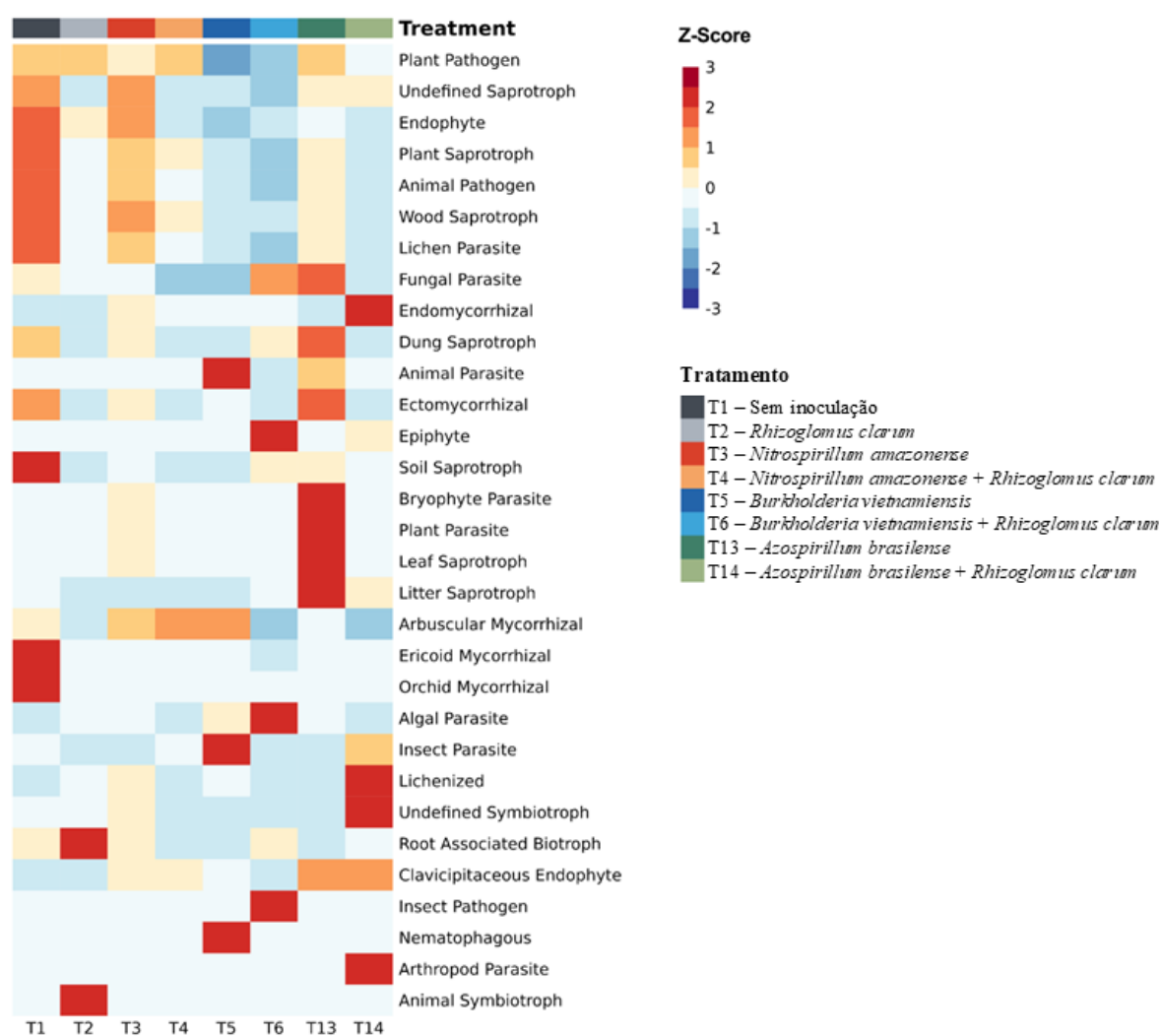


Fonte: Dados do próprio autor.

Por outro lado, a análise de predição das funções metabólicas fúngicas inferidas pela plataforma FUNGUILD (Figura 4.18), indicou que, no tratamento testemunha não inoculada com BPCP, houve aumento no número de sequências associadas aos processos saprofíticos do solo, micorrizas ericóides e orquidóides, enquanto que a inoculação de *R. clarum* aumentou os táxons relacionados às funções de biotróficos associados às raízes e simbiotróficos de animais. A inoculação com *N. amazonense* e a coinoculação desta bactéria com *R. clarum* não resultaram em alterações expressivas nas sequências relacionadas

às funções fúngicas analisadas. A inoculação com *Bur. vietnamiensis* reduziu o número de sequências associadas à função de patógenos de plantas, enquanto aumentou os táxons relacionados com parasitas de animais e insetos e nematofagia. Quando esta bactéria foi combinada com *R. clarum*, houve maior número de sequências associadas com epífitas, parasitas de algas e patógenos de insetos. A inoculação de *Az. brasilense* resultou em aumento nos táxons relacionados como parasitas de briófitas e de plantas, saprotróficos de folha e serrapilheira. E a coinoculação de *Az. brasilense* com *R. clarum* resultou em incremento de sequências associadas aos processos de endomicorrizas, líquens, simbio-tróficos não definidos e parasitas de artrópodes.

Figura 4.18 Funções fúngicas relacionadas aos ciclos bioquímicos e funções ecológicas (conforme a análise FUNGUILD - Fungi Functional Guild) em raízes de feijoeiro após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglossum clarum*



Fonte: Dados do próprio autor.

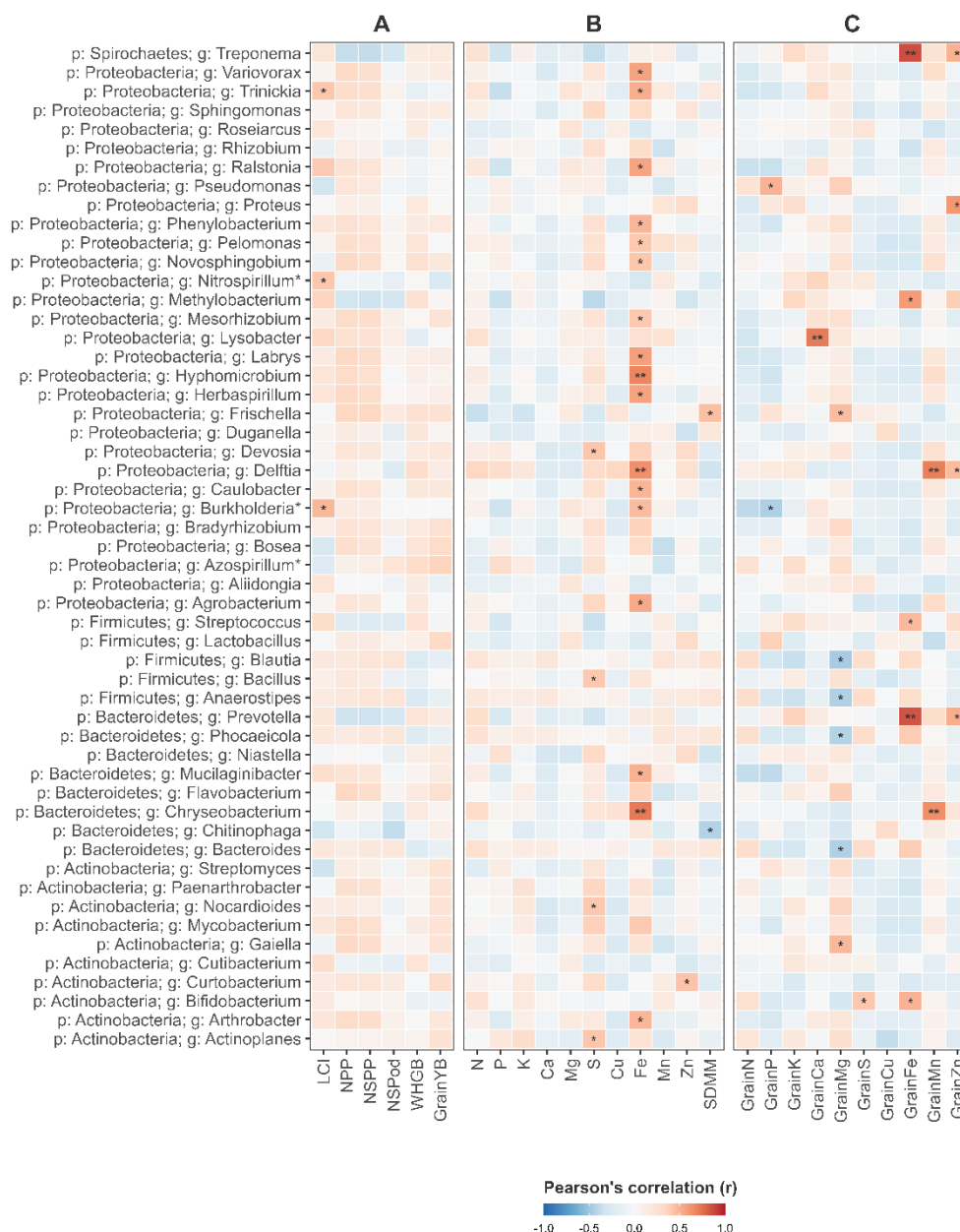
4.3.4 Correlação entre as comunidades microbianas e componentes de produção, produtividade e nutrientes

A correlação de Pearson (considerando apenas $p < 0,01$) entre a abundância relativa dos principais gêneros bacterianos encontrados nas raízes do feijão, mais os três gêneros inoculados (embora estes não se encontrem dentro dos mais abundantes nas raízes), com os componentes de produção, produtividade e nutrição de plantas e grãos indica que as abundâncias relativas de *Hyphomicrobium*, *Delftia* e *Chryseobacterium* se correlacionaram positivamente com o teor de Fe foliar, enquanto de *Lysobacter* se correlacionou positivamente com o teor de Ca no grão, de *Prevotella* com o teor de Fe no grão e de *Delftia* e *Chryseobacterium* com o teor de Mn no grão (Figura 4.19). Quanto aos gêneros inoculados, a abundância relativa de *Burkholderia* se correlacionou positivamente com ICF e o teor de Fe foliar ($p < 0,05$), mas negativamente com o teor de P nos grãos ($p < 0,05$). A abundância relativa do gênero *Nitrospirillum* se correlacionou positivamente com ICF ($p < 0,05$).

Foi realizada correlação de Pearson similar entre os mesmos caracteres do feijoeiro com a abundância dos principais gêneros fúngicos e observou-se correlação positiva de *Psathyrella*, *Xenoanthostomella*, *Trichocladium*, *Phaeosphaeria* e *Cladosporium* com o teor de Fe nos grãos ($p < 0,01$), apenas (Figura 4.20).

Considerando-se, por fim, a abundância relativa dos principais gêneros de FMA identificados, observou-se correlação positiva ($p < 0,01$) de *Septoglomus* e de *Paraglomus* com o teor de Zn foliar e de Fe no grão, respectivamente (Figura 4.21). A abundância relativa do gênero inoculado *Rhizophagus* se correlacionou negativamente apenas com o teor de K foliar e de Mn nos grãos ($p < 0,05$).

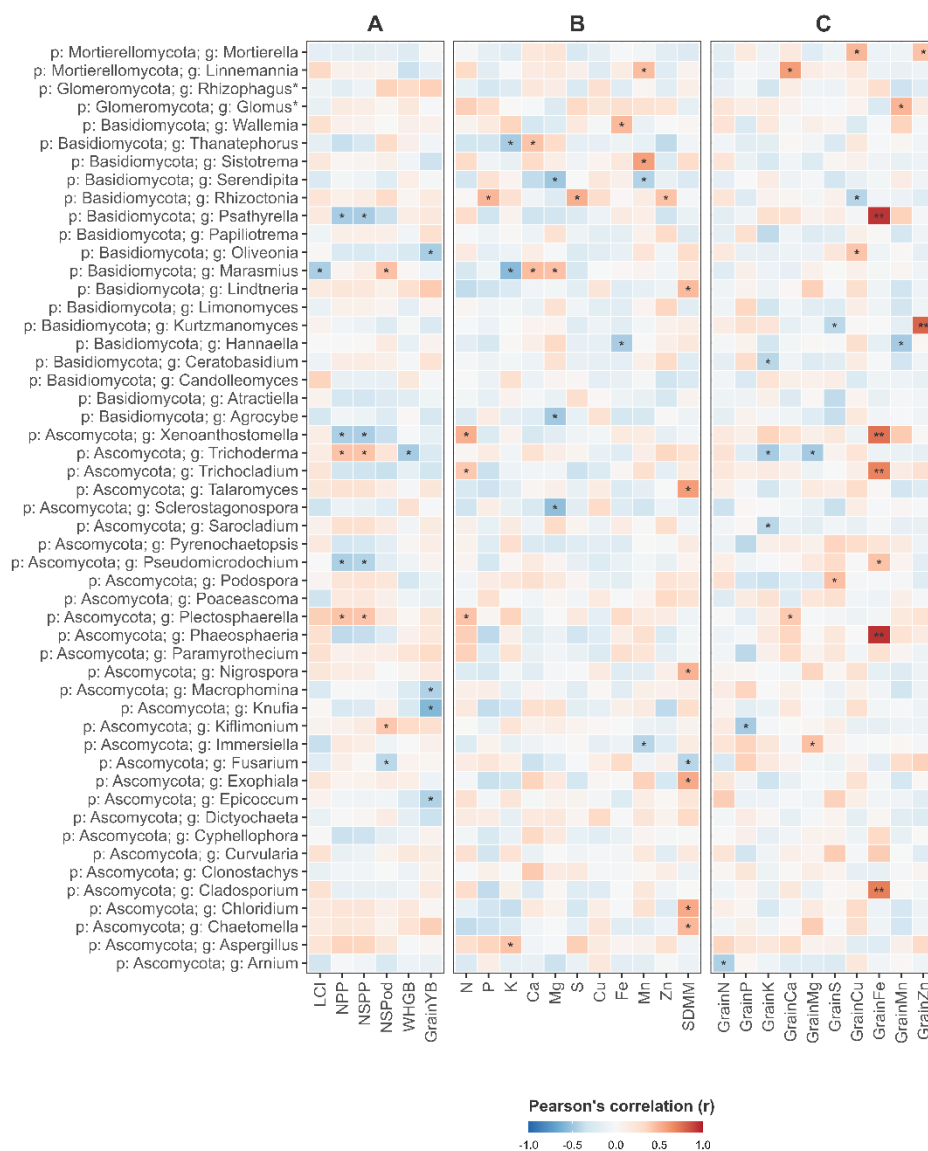
Figura 4.19 Correlação de Pearson entre os principais gêneros bacterianos encontrados nas raízes do feijão, inclusive os gêneros inoculados *Azospirillum*, *Nitrospirillum* e *Burkholderia* com os componentes de produção, produtividade, teores de nutrientes na parte aérea e nos grãos



Nota: * e **: significativo à 5% e 1%, respectivamente. LCI, NPP, NSPP, NSPod, WHGB, GrainYB: índice de clorofila foliar, número de vagens por planta, número de grãos por planta, número de grãos por vagem, massa de cem grãos e produtividade de grãos de feijão, respectivamente. N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco na parte aérea. SDMM: massa seca da parte aérea do feijão. GrainN, GrainP, GrainK, GrainCa, GrainMg, GrainS, GrainCu, GrainFe, GrainMn, GrainZn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco nos grãos de feijão.

Fonte: Dados do próprio autor.

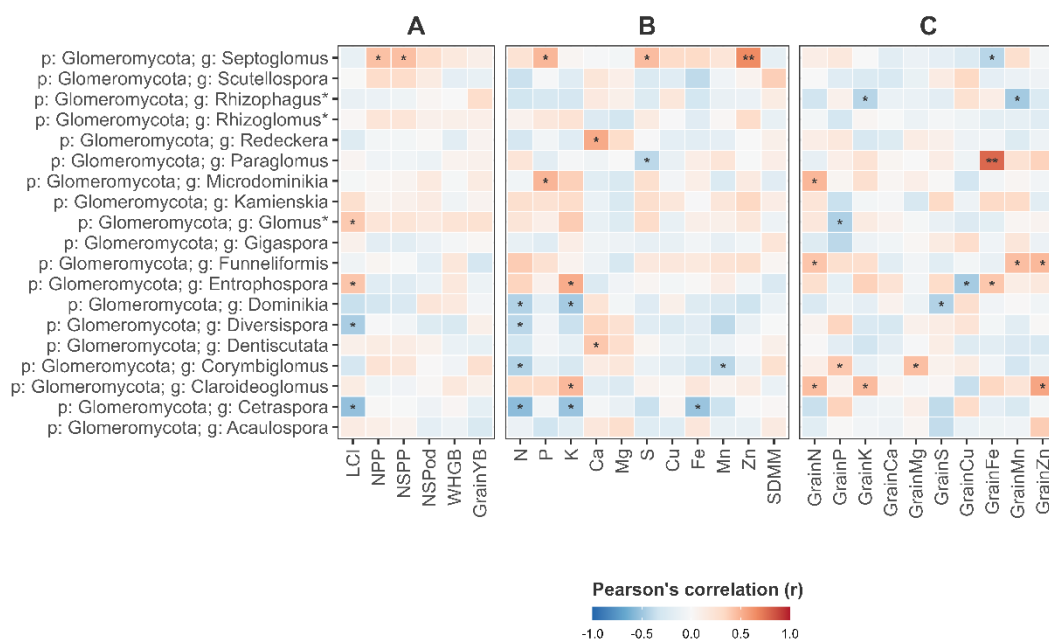
Figura 4.20 Correlação de Pearson entre os principais gêneros fúngicos encontrados nas raízes do feijão, com os componentes de produção, produtividade, teor de nutrientes na parte aérea e nos grãos



Nota: * e **: significativo à 5% e 1%, respectivamente. LCI, NPP, NSPP, NSPod, WHGB, GrainYB: índice de clorofila foliar, número de vagens por planta, número de grãos por planta, número de grãos por vagem, massa de cem grãos e produtividade de grãos de feijão, respectivamente. N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco na parte aérea. SDMB: massa seca da parte aérea do feijão. GrainN, GrainP, GrainK, GrainCa, GrainMg, GrainS, GrainCu, GrainFe, GrainMn, GrainZn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco nos grãos de feijão.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 4.21 Correlação de Pearson entre os principais gêneros de fungos micorrízicos arbusculares encontrados nas raízes do feijão, com os componentes de produção, produtividade, teor de nutrientes na parte aérea e nos grãos



Nota: * e **: significativo à 5% e 1%, respectivamente. LCI, NPP, NSPP, NSProd, WHGB, GrainYB: índice de clorofila foliar, número de vagens por planta, número de grãos por planta, número de grãos por vagem, massa de cem grãos e produtividade de grãos de feijão, respectivamente. N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco na parte aérea. SDMM: massa seca da parte aérea do feijão. GrainN, GrainP, GrainK, GrainCa, GrainMg, GrainS, GrainCu, GrainFe, GrainMn, GrainZn: teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, cobre, ferro, manganês e zinco nos grãos de feijão.

Fonte: Dados do próprio autor.

4.4 DISCUSSÃO

Este estudo verificou como diferentes BPCP e sua coinoculação com um FMA influenciam a comunidade microbiana das raízes do feijoeiro de inverno, sua nutrição e produtividade, ao longo de dois cultivos. Este estudo é pioneiro ao combinar *Az. brasilense*, amplamente estudada e consolidada como inoculante na América do Sul (Cassán *et al.*, 2020), e outras bactérias provenientes de coleções brasileiras com um FMA, em condições de campo, e demonstrar como a comunidade microbiana nas raízes, inclusive a pouco estudada comunidade de FMA, é influenciada pelos tratamentos com microrganismos benéficos.

Em geral, os resultados indicaram que a maioria dos parâmetros relacionados ao crescimento e à nutrição da cultura do feijão foram influenciados de maneira diferenciada

pelos fatores BPCP e FMA e pela interação entre eles ao longo dos dois ciclos de cultivo. A inoculação de FMA no feijão em sucessão ao milho inoculado foi eficaz em aumentar a produtividade do feijoeiro apenas no primeiro cultivo. Esses resultados sugerem que a inoculação de FMA no milho e no feijão em sucessão pode modificar a dinâmica entre os microrganismos inoculados e a cultura do feijão, influenciando a interação planta-microrganismo ao longo do tempo. Apesar de neste estudo não ser possível atribuir as diferenças dos anos dentro de uma mesma inoculação devido às variações ambientais, os resultados fornecem as primeiras evidências de que a repetição da inoculação em cultivos sucessivos pode beneficiar a cultura do feijão.

Interessantemente, os resultados revelaram que cada inoculação pode modular a comunidade microbiana de maneira distinta, sem impactar a diversidade global, já que não houve uma mudança nos índices de biodiversidade alfa e beta, assim como se observou com a comunidade microbiana das raízes do milho e como se têm visto em outras espécies (Nogales *et al.*, 2021, Jie *et al.*, 2022). A maior diferença entre as comunidades ocorreu na presença e ausência de táxons que aparecem em baixa abundância relativa, o que demonstra que a inoculação com diferentes microrganismos pode dar lugar a alterações qualitativas a nível de microbioma da raiz.

Os gêneros mais abundantes encontrados nas raízes do feijoeiro foram *Rhizobium*, *Methylobacterium*, *Streptomyces* e *Bradyrhizobium*, nessa ordem. Esses gêneros são conhecidos por se associarem com as plantas (Yang *et al.*, 2022; Saranraj *et al.*, 2021; Viaene *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2021; Dourado *et al.*, 2015), proporcionando em geral benefícios para as mesmas. Os gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* são encontrados nos nódulos de leguminosas, incluindo o feijão, realizando FBN (Martinez-Romero, 2003; Leite *et al.*, 2022; Ormeno-Orrillo *et al.*, 2006), porém nem sempre se trata de uma simbiose efetiva, já que o feijoeiro é uma planta promíscua, ou seja, não seleciona apenas rizóbios eficientes no fornecimento de N (Shamseldin; Velázquez, 2020; Michiels *et al.*, 1998).

Dentre os gêneros bacterianos mais abundantes nas raízes do feijão que se correlacionaram positivamente com os parâmetros de crescimento e nutrição (especialmente conteúdo de Fe), ocorrem os gêneros *Hyphomicrobium*, que engloba espécies que são quimiorganotróficas, e desnitrificantes, se associando com as raízes de plantas e aumentando seu crescimento (Kloos *et al.*, 1995; He *et al.*, 2019), *Chryseobacterium*, que abriga BPCP (Shin *et al.*, 2007; Dardanelli *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2013), encontradas em solo (Li; Zhu, 2012) e raízes de plantas (Chhetri *et al.*, 2022; Cho *et al.*, 2010). Bactérias

do gênero *Lysobacter* já foram isoladas de raízes e solo (Hayward *et al.*, 2010) e apresentam potencial de biocontrole de doenças de plantas (Brescia *et al.*, 2020; Islam, 2011). No gênero *Delftia* há espécies de simbionte vegetal que estimulam o crescimento das plantas por meio da FBN, solubilização de fosfato, síntese de auxinas e sideróforos (Agafonova *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2005).

Os gêneros fúngicos *Fusarium* e *Rhizoctonia* estiveram entre os mais abundantes em todos os tratamentos, o que é esperado, pois esses gêneros abrigam espécies patogênicas de muitas culturas, podendo ser oportunistas ou comensais, sem prejuízos para as plantas (Blanco *et al.*, 2018; Hassan *et al.*, 2015; Canpolat *et al.*, 2023; Sajeena *et al.*, 2020; Patil; Sriram, 2020). Neste sentido, observa-se que não houve correlações significativas ($p < 0,01$) destes dois gêneros com os parâmetros analisados para a cultura.

Dentre os gêneros fúngicos mais abundantes correlacionados com os parâmetros da cultura, a literatura relata que o gênero *Psathyrella* abriga espécies decompositoras de madeira (Arora, 1986), e outras que se associam endofiticamente às plantas (Bayman *et al.*, 2016; Sicoli *et al.*, 2019). Já o gênero *Xenoanthostomella* engloba fungos conhecidos como saprófitos (Samarakoon *et al.*, 2023; Thakshila *et al.*, 2024), mas sem estudos sobre suas interações com as plantas. As espécies do *Trichocladium* são relatadas como endofíticas de raízes (Tran-Cong *et al.*, 2019), mas também há patógenos de raízes (Nan *et al.*, 1992; Dakheel *et al.*, 2023). O gênero *Phaeosphaeria*, que neste trabalho mostrou correlação positiva com o teor de Fe nos grãos, é conhecido pelas espécies patogênicas causadoras de doenças foliares (Gilbert *et al.*, 1995), inclusive na cultura do milho no Brasil (Lopes *et al.*, 2007). Por fim, *Cladosporium* envolve fungos endofíticos promotores de crescimento vegetal, que exercem proteção contra fitopatógenos, sintetizam giberelinas e compostos orgânicos voláteis, além da solubilizarem fosfato e zinco (Răut *et al.*, 2021; Hamayun *et al.*, 2009).

Por outro lado, entre os FMA mais abundantes destacam os gêneros da família Glomeraceae, conforme geralmente ocorre em raízes de culturas agrícolas (Chen *et al.*, 2022; Ma *et al.*, 2018; Sosa-Hernández *et al.*, 2018; Schalamuk; Cabello, 2010). Entre eles, o gênero *Septoglomus* se correlacionou positivamente com o teor de Zn nas plantas e possui espécies com demonstrados efeitos positivos no crescimento das plantas (Alrajhei *et al.*, 2022; Chimal-Sánchez *et al.*, 2020; Duc *et al.*, 2018; Tedone *et al.*, 2020).

A inoculação de *R. clarum* promoveu maior produtividade de grãos do feijoeiro em 2022, maior exportação de N, K, Mg e Fe em 2022, além de menor teor nos grãos e exportação de Cu em 2023. Todos os efeitos da inoculação com FMA na nutrição e no

crescimento do feijoeiro decorrem dos benefícios já citados da simbiose micorrízica para as plantas, ou seja, do maior acesso e absorção de nutrientes pela exploração de maior volume de solo como também pela expansão enzimática da rizosfera (Schaefer *et al.*, 2021; Etesami *et al.*, 2021), inclusive no feijão, tanto em vasos como no campo (Youssef *et al.*, 2017; Ibijbijen *et al.*, 1996; Buzo *et al.*, 2022; Razakatiana *et al.*, 2020).

O fato de não ocorrerem benefícios mais significativos no segundo ano, concorda com outros estudos prévios, (Ryan e Graham, 2018), pois o desempenho da inoculação de um FMA em culturas agrícolas depende de diversos aspectos ambientais, (Johnson *et al.*, 2015; Zheng *et al.*, 2015; Ji *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2019; Berger e Gutjahr, 2021; Han *et al.*, 2023; Calvo *et al.*, 2024).

Com a inoculação de FMA foram observados 168 gêneros bacterianos e 87 gêneros fúngicos exclusivos, demonstrando a modificação do microbioma das raízes do feijoeiro pela inoculação de FMA. Dentre as bactérias exclusivas para as plantas inoculadas com o FMA, ocorreu o gênero *Azohydromonas*, fixador de N que aparece associado aos nódulos de leguminosas, consumindo hidrogênio liberado pela FBN (Xie *et al.*, 2021) e inibindo patógenos do solo (Wurzburger *et al.*, 2012). Nas plantas inoculadas com FMA, os aumentos nos táxons relacionados à função metabólica da respiração do enxofre e quitinólise podem ser decorrentes da presença dos gêneros *Roseovarius* (Ding *et al.*, 2023) e *Cytophaga* (Brzezinska *et al.*, 2014), respectivamente.

Dentre os gêneros fúngicos exclusivos do tratamento com *R. clarum*, os mais abundantes foram *Dactylaria*, gênero encontrado no solo e relatado como nematófago (Singh *et al.*, 2007) e *Waitea*, que apesar de relatado como patogênico para plantas (Kammerer *et al.*, 2011), também engloba espécies relatadas como fungo micorrízico de uma orquídea do cerrado e com potencial de biocontrole de doenças de plantas (Carvalho *et al.*, 2015 e 2021). No feijoeiro a inoculação de *R. clarum* não modulou a comunidade de FMA nas raízes, pois não houve nenhum gênero de FMA exclusivo nas raízes do feijão para este tratamento. Além disso, *R. clarum* foi observada nas raízes inoculadas e não inoculadas com este fungo, indicando ocorrência nativa dessa espécie no solo da área experimental.

A respeito da inoculação de BPCP, os efeitos de *Az. brasilense* resultaram em maior exportação de N pelos grãos em 2022 e em maior acúmulo de N quando a bactéria foi inoculada em 2023. Embora *Az. brasilense* seja muito estudado pela FBN, ressalta-se que nem todo o N fixado pelas bactérias é disponibilizado às plantas, contribuindo com apenas 5-18% da demanda de N da planta (Cassán *et al.*, 2020). Os incrementos em N de

uma bactéria associativa inoculada para uma leguminosa como o feijão decorrem do maior desenvolvimento radicular, com maior espaço para a nodulação de rizóbios (Hungria *et al.*, 2013; Corsini, 2014; Cassán *et al.*, 2020 e Garé, 2020), maior volume de solo explorado e melhor aproveitamento da adubação nitrogenada (Martins *et al.*, 2018a).

Nesse sentido, a literatura demonstra ocorrência de relação sinérgica entre *Az. brasilense* e espécies de rizóbio, o que poderia explicar a melhor nutrição de N observada com essa inoculação, devido ao possível aumento da nodulação e, conseqüentemente, da FBN e o maior desenvolvimento do sistema radicular (Hungria *et al.*, 2013, Burdman *et al.*, 1997, Gitti *et al.*, 2012a). Apesar disso, neste estudo não se observaram efeitos na produtividade do feijoeiro, provavelmente devido à complexa interação entre os fatores ambientais que influenciam a associação entre *Az. brasilense* e o feijoeiro, conforme observado em estudos prévios (Vieira *et al.*, 2021; Garé, 2020; Gitti *et al.*, 2012b, Melo Filho *et al.*, 2020).

Por outro lado, quando as plantas foram coinoculadas com *Az. brasilense* e FMA, houve menor NGPV e maior acúmulo de N e de P em 2023. Raramente *Az. brasilense* é testada em conjunto com algum FMA, mas alguns trabalhos demonstraram sinergismo entre FMA e *Az. brasilense* (Vázquez *et al.*, 2000), inclusive para o acúmulo de P nas plantas (Ardakani *et al.*, 2011; Hernandez-Perez *et al.*, 2017) e para o crescimento do feijoeiro (Medina *et al.* 2005).

A inoculação com *Az. brasilense* também modificou o microbioma das raízes do feijoeiro, já que ocorreram 92 gêneros bacterianos exclusivos nas raízes das plantas inoculadas com a bactéria, sendo os gêneros *Sporosarcina*, *Azohydromonas* e *Enterococcus* os de maior abundância relativa. As espécies dos três gêneros são relatadas como promotoras do crescimento vegetal, por meio de vários mecanismos como a produção de ácido indol acético, giberelinas e sideróforos, ou a solubilização de fosfato e FBN (Janarthine *et al.*, 2012; Bushra *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2021; Lee *et al.*, 2015; Batool *et al.*, 2024; Xie *et al.*, 2021). Isso sugere que a inoculação de *Az. brasilense* no feijão pode promover um recrutamento diferencial de novos táxons de BPCP para as raízes da cultura.

A análise das funções bacterianas relacionadas aos ciclos bioquímicos indicou que a inoculação de *Az. brasilense* resultou em aumento nas sequências associadas aos processos de oxidação escura do sulfito e do enxofre, em parte decorrente dos gêneros *Sulfitobacter* e *Sulfuriflexus*, de ocorrência exclusiva deste tratamento (Kojima; Fukui, 2016; Sorokin *et al.*, 2015). Também ocorreu maior número de táxons relacionados com a

função de predadores ou exoparasitas bacterianos, em parte devido à presença do gênero *Bacteriovorax* exclusiva deste tratamento (Kamada *et al.*, 2023; Baer *et al.*, 2000).

Ao mesmo tempo, ocorreram 57 gêneros fúngicos exclusivos no tratamento com *Az. brasilense*, com *Phyllosticta*, *Spissiomycetes* e *Buckleyzyma* sendo os gêneros de maior abundância relativa. O gênero fúngico *Phyllosticta* é endofítico de plantas (Wikey *et al.*, 2013), com algumas espécies patogênicas (Glienke *et al.*, 2011) e outras benéficas para as plantas (Chen *et al.*, 2024), que podem ter contribuído com os efeitos benéficos observados após a inoculação de *Az. brasilense*. Fungos do gênero *Spissiomycetes* têm sido relatados como fungos endofíticos produtores de melanina (Suwannarach *et al.*, 2019; Suwannarach *et al.*, 2018), sendo desconhecida sua interação com as culturas agrícolas. Da mesma forma, também se desconhece a associação de espécies do gênero *Buckleyzyma* (leveduras) com raízes de plantas, embora anteriormente tenham sido isoladas de folhas de plantas e solo (Wang *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2023a) e tenham sido relatadas como capazes de impedir o crescimento e a reprodução de *Erysiphe necator*, fungo patogênico que causa oídio (Pauvert *et al.*, 2020). O aumento nos táxons relacionados com a função fúngica de parasita de plantas nesse tratamento decorre provavelmente da presença exclusiva dos gêneros *Phyllosticta* e *Dothiorella*, ambos conhecidos por causarem doenças de plantas (Pitt *et al.*, 2013; Tran *et al.*, 2017).

Em relação a inoculação de *A. macrocytogenes*, esta não diferiu do tratamento testemunha não inoculada com BPCP na maior parte dos parâmetros analisados, mas resultou em menor acúmulo de Zn em relação às plantas não inoculadas com BPCP. Esses resultados ocorrem apesar de esta espécie ser fixadora de N e produzir o sideróforo azoverdina (Collinson *et al.*, 1990; New e Tcha, 1982; Grzyb *et al.*, 2021). Além disso, o gênero *Azomonas* de maneira geral é pouco estudado como BPCP e a literatura indica efeitos tímidos sobre a promoção de crescimento das plantas, como canola (Aquino *et al.*, 2023). Somente foi possível encontrar um trabalho com duas espécies arbóreas neotropicais (*Cariniana estrellensis* e *Trema micranta*) cultivadas em condições de seca tendo seu crescimento beneficiado com a inoculação de *Azomonas* sp. (Tiepo *et al.*, 2018).

Menos conhecida ainda é a interação entre *A. macrocytogenes* e *R. clarum*, não sendo encontrados relatos da coinoculação destas espécies no feijão. No presente estudo, essa combinação resultou em acúmulo de Zn similar ao tratamento testemunha não inoculada com BPCP em 2022, sugerindo que a coinoculação compensou a diminuição do acúmulo de Zn observado nas plantas inoculadas apenas com a bactéria. Porém são

precisos novos estudos para entender como *A. macrocytogenes* influencia no acúmulo de Zn da planta e como interage com *R. clarum* inoculado.

A inoculação isolada da bactéria *Azot. beijerinckii* proporcionou maior acúmulo de N em 2023, além de maior teor de Fe e exportação de N pelos grãos. Porém, essa inoculação reduziu o acúmulo de Zn no primeiro cultivo de feijão. O gênero *Azotobacter* abriga espécies que realizam FBN (Döbereiner *et al.*, 1972; Dashadi *et al.*, 2011), inclusive a espécie *Azot. beijerinckii*, o que pode explicar o maior acúmulo de N observado (Nehela *et al.*, 2021; Azcón e Barea, 1975; Jensen, 1951). A ausência de maiores efeitos no crescimento das plantas inoculadas poderia ser devido ao fato desta espécie ser mais adaptada a solos alcalinos ou salinos (Chaudhary *et al.*, 2013; Jensen, 1965), diferentemente das condições deste experimento.

Também existem poucos estudos envolvendo a coinoculação de *Azot. beijerinckii* e FMA, mas estes sugerem uma sinergia entre os dois microrganismos. Por exemplo, Altaai *et al.* (2024) observaram efeitos superiores da combinação do FMA *Glomus mosseae* com *Azot. chroococcum* no crescimento de plantas de feijão comum. No presente trabalho, o único efeito benéfico da combinação de *Azot. beijerinckii* com FMA foi ao promover maior acúmulo de Zn em 2022. Aparentemente, coinocular *R. clarum* compensou o menor acúmulo de Zn causado pela inoculação desta bactéria, com um resultado similar ao que ocorreu com a inoculação de *A. macrocytogenes*. Não existem estudos prévios que permitam explicar a influência dessas duas BPCP e o *R. clarum* na nutrição de Zn do feijoeiro, sendo relevante investigar o efeito destas interações de forma mais aprofundada, especialmente em solos com deficiência de Zn.

Os efeitos da espécie *B. amyloliquefaciens* inoculada isoladamente foram o aumento da exportação de N pelo grão em 2022 e do acúmulo de N em 2023, mas sem influenciar o crescimento e a produtividade do feijoeiro. As bactérias do gênero *Bacillus* são conhecidas pela produção de fitormônios (Poveda e González-Andrés, 2021), solubilização de fosfato (Richardson *et al.*, 2011), biocontrole de patógenos (como *Rhizoctonia solani*) e nematoides (Burkett-Cadena *et al.*, 2008; Tsoetsi *et al.*, 2022; Martins *et al.*, 2018b), sendo capazes de realizar FBN também (Deng *et al.*, 2022). Esta última característica poderia explicar o maior acúmulo e exportação de N observado nas plantas de feijão, apesar de não aumentar o crescimento e a produtividade nas plantas, em contraste com o observado em outros estudos (Martins *et al.*, 2018b; Wilkes *et al.*, 2020).

A combinação de *B. amyloliquefaciens* com *R. clarum* promoveu menor NGPV e exportação de Mg pelos grãos. Isto contrasta com outro estudo no qual a coinoculação

desta bactéria com um consórcio de vários FMA (*Acaulospora laevis*, *Septoglomus deserticola* e *Rhizophagus irregularis*) resultou em maior biomassa vegetal e rendimento de soja, além de melhorar a tolerância das plantas às condições de estresse hídrico (Sheteiwy *et al.*, 2021). Porém, observou-se um efeito positivo da interação entre esta BCPC e o *R. clarum* na nutrição de Zn, que precisa de estudos mais detalhados para esclarecer o mecanismo envolvido neste processo.

A inoculação com outra espécie do mesmo gênero, *B. aryabhatai*, aumentou o teor de Fe nos grãos, além das exportações de N em 2022 e de Fe. A promoção de crescimento por esta espécie decorre dos mecanismos já citados para o gênero *Bacillus*. A mesma bactéria é capaz de produzir sideróforos, que são quelantes férricos extracelulares que agem solubilizando o Fe ao reduzirem o Fe^{3+} (solubilidade muito baixa) para Fe^{2+} (solúvel), permitindo sua absorção pelas plantas (Yan *et al.*, 2016; Sultana *et al.*, 2021). A realização de FBN por essa espécie varia conforme a cepa, podendo haver isolados fixadores de N (Chuong e Tri, 2024) e outros sem genes para FBN (Bhattacharyya *et al.*, 2017).

Assim como nas outras BCPC inoculadas, a coinoculação de *B. aryabhatai* e *R. clarum* modificou os resultados em relação à inoculação desta bactéria isoladamente. Ocorreu menor acúmulo de N em 2022 e maior acúmulo de N e P em 2023, mas houve redução no acúmulo de Zn em 2023. Somente o trabalho de Huang *et al.* (2023) verifica diretamente a interação entre a bactéria e um FMA inoculados, relatando melhor utilização de P orgânico e consequente maior teor de P em plantas, de maneira similar ao observado neste experimento. Verifica-se, portanto, que os efeitos das duas espécies de *Bacillus* na planta foram diferentes, assim como a sua interação com o *R. clarum*. Por esta razão, considerando a relevância do gênero *Bacillus* e FMA para a agricultura, é essencial aprofundar os estudos sobre essas interações e seu impacto no desenvolvimento vegetal e na produtividade agrícola.

Nos casos das inoculações com *A. macrocytogenes*, *Azot. beijerinckii*, *B. amylo-liquefaciens* e *B. aryabhatai*, não foram realizadas análises específicas das comunidades microbianas associadas às raízes, sendo necessários trabalhos futuros para determinar como essas comunidades foram influenciadas por estas inoculações e se as alterações observadas na cultura do feijão decorrem apenas de efeitos diretos das BCPC inoculadas ou de modulações na comunidade microbiana das raízes induzidas pelas espécies inoculadas.

A bactéria *Bur. vietnamiensis* inoculada no feijão resultou em maior NVPP, NGPP e acúmulo de Cu, além de maior exportação de N pelos grãos em 2022 e maior acúmulo de N em 2023. Existem poucos estudos com o gênero *Burkholderia* em feijão, mas em outras culturas, como o arroz, a inoculação também demonstrou promover o crescimento e aumentar a produtividade e massa de cem grãos da cultura (Trân-Van *et al.*, 2000). A boa resposta das plantas à inoculação com esta bactéria podem envolver a produção de fitormônios e sideróforos, solubilização de fosfato, FBN, produção de ACC-deaminase e ainda absorção aprimorada de N pelas raízes induzida por maior expressão de genes relacionados ao transporte e assimilação de compostos nitrogenados pela planta (Govindarajan *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2010; Shinjo *et al.*, 2018; Aroumougame *et al.*, 2020; Baghel *et al.*, 2020; Shinjo *et al.*, 2020; Pal *et al.*, 2022).

Além disso, a inoculação de espécies de *Burkholderia* promoveu o crescimento do feijoeiro comum por meio da mobilização de P, aumento da nodulação e por vezes por antagonismo com espécies de *Fusarium* patogênicas (Peix *et al.*, 2001). Porém o uso de bactérias deste gênero como inoculante na agricultura é desestimulado devido à similaridade com espécies patogênicas para a saúde humana (Espinosa-Victoria *et al.*, 2020; Flores-Vega *et al.*, 2023).

A coinoculação de *Bur. vietnamiensis* e *R. clarum* apresentou resultados inferiores em comparação com a inoculação individual da BPCP, já que reduziu o NGPV e o acúmulo de Zn em 2022. Os efeitos de redução de Zn quando há FMA combinado podem ser decorrentes da capacidade de armazenar metais pesados em vacúolos dos fungos, incluindo o Zn, controlando sua disponibilidade para as plantas, a depender do tipo de FMA e do genótipo vegetal (Ruytinx *et al.*, 2020). Por outro lado, a coinoculação aumentou o acúmulo de P em 2023, que pode ser consequência da combinação entre a solubilização de fosfato pela bactéria inoculada e posterior absorção pelas hifas dos FMA.

No entanto, assim como observado após a inoculação com *Az. brasilense*, a inoculação com *Bur. vietnamiensis* também resultou em uma mudança qualitativa nas comunidades microbianas das raízes, o que pode ter contribuído com as alterações no crescimento, produção e nutrição das plantas. Entre os 68 gêneros bacterianos exclusivos identificados nas raízes das plantas inoculadas com *Bur. vietnamiensis*, encontra-se *Oscillochloris*, que engloba bactérias filamentosas fixadoras de N (Ivanovsky *et al.*, 1999; Gaisin *et al.*, 2019; Tourova *et al.*, 2006), o que pode ter contribuído adicionalmente à melhora na nutrição do N observada. Há também o gênero exclusivo *Ensifer* que engloba BPCP que realizam FBN, solubilização de fosfato e produção de AIA, cujas inoculações

já se mostraram capazes de aumentar o crescimento de plantas (García *et al.*, 2004; Jiménez-Guerrero *et al.*, 2015; Temprano-Vera *et al.*, 2018). Por fim, verificou-se o gênero exclusivo *Rhodoplanes* que possui espécies fixadoras de N e desnitrificantes (Zhang *et al.*, 2022). A presença desses gêneros exclusivamente neste tratamento pode ter contribuído com o maior crescimento do feijoeiro e maior exportação de N observados após a inoculação de *Bur. vietnamiensis*.

Quanto aos fungos, após a inoculação de *Bur. vietnamiensis*, ocorreram 29 gêneros fúngicos exclusivos, sendo *Peroneutypa* o de maior abundância, gênero com espécies saprotróficas de madeira morta, patogênicas e endofíticas de plantas (Shang *et al.*, 2017; Errasti *et al.*, 2014). O segundo gênero exclusivo de maior abundância foi *Lecanicillium*, com mecanismos de promoção de crescimento de plantas relatados (Kumar *et al.*, 2018), o que pode ter contribuído para a resposta positiva sobre o NVPP e NGPP observada no feijoeiro. Este gênero de fungos possui espécies entomopatogênicas e com atividade contra nematoides fitoparasitários e fungos patogênicos (Goettel *et al.*, 2008). A presença desse gênero nas raízes inoculadas com *Bur. vietnamiensis* se relaciona com o aumento de táxons relacionados às funções de parasita de insetos e nematófago. Curiosamente, não houve nenhum gênero de FMA exclusivo para a inoculação com *Bur. vietnamiensis*.

Por fim, o efeito da inoculação de *N. amazonense* foi discreto no feijão, pois somente se observou maior teor e exportação de Fe pelos grãos. A ausência de resultados para o crescimento e nutrição do feijoeiro, com destaque para o N, contrasta com trabalhos anteriores que relataram promoção de crescimento após a inoculação desta espécie em cana de açúcar (Reis *et al.*, 2020, Santis-Sica, 2020). A promoção de crescimento se deve principalmente pela FBN e produção de auxinas, além de que esta bactéria é adaptada à acidez do solo e realiza a FBN na presença de níveis maiores de N no meio, tendo um nível de N limitante superior ao nível de *Az. brasilense* (Hartmann *et al.*, 1986; Schwab *et al.*, 2018; Magalhães *et al.*, 1983). Outra explicação possível é que talvez esta bactéria tenha uma melhor interação com outras espécies como o milho e sobretudo com a cana-de-açúcar, o que demonstra que é essencial identificar as espécies e cepas de BPCP que beneficiam cada cultura agrícola.

A coinoculação de *N. amazonense* com o *R. clarum* aumentou o NGPV e a exportação de Mg pelos grãos. Isso fornece um insight inicial de sinergismo entre ambos para o feijão, mas como não foram encontrados trabalhos combinando *N. amazonense* com algum FMA, novos estudos precisam esclarecer os mecanismos dessa interação e seus impactos em diferentes culturas agrícolas.

As comunidades bacterianas nativas das raízes foram modificadas pela inoculação de *N. amazonense*, com a ocorrência de 42 gêneros bacterianos exclusivos nas raízes do feijão com esta inoculação. Dentre eles, identificaram-se os gêneros *Desulfobulbus* e *Desulfosporosinus*, que estão relacionados com a maior ocorrência de táxons relacionados com o processo de respiração do sulfito observada neste tratamento (Galushko; Kuever *et al.*, 2019; Spring *et al.*, 2006; Ramamoorthy *et al.*, 2006). Os gêneros *Azospira* e *Azorhizophilus*, também exclusivos deste tratamento, abrigam espécies fixadoras de N encontrados em tecidos vegetais (Bae *et al.*, 2007; Reinhold-Hurek; Hurek, 2000; Attar, 2018).

Ao inocular *N. amazonense*, também foram verificados 47 gêneros fúngicos exclusivos nas raízes do feijão, sendo *Monosporascus*, *Porotheleum* e *Nodulisporium* os gêneros mais abundantes. O gênero *Monosporascus* abriga fungos fitopatogênicos (Cohen *et al.*, 2000) e fungos endofíticos de plantas (Collado *et al.*, 2002). O terceiro gênero fúngico mais abundante, *Nodulisporium*, abriga espécies saprofíticas e endofíticas, com relatado potencial inibitória contra patógenos de plantas (Cao *et al.*, 2016; Hassan *et al.*, 2013; Joseph; Nair, 2021). Além disso, o gênero exclusivo *Purpureocillium* é muito conhecido por ser nematófago, permitindo o controle de nematoides em áreas agrícolas, e recentemente foi reportado como promotor de crescimento de plantas em solos não infestados com fitonematoides (Dahlin *et al.*, 2019; Baron *et al.*, 2020; Rigobelo *et al.*, 2024). E o gênero de leveduras *Pseudozyma* é ainda pouco estudado, mas sabe-se que são fungos saprofíticos ou epífitos e também há espécies que são agentes de biocontrole de patógenos fúngicos de plantas (Avis; Bélanger, 2002; Buxdorf *et al.*, 2013).

O gênero *Paraglomus*, que se correlacionou positivamente com o teor de Fe dos grãos, ocorreu nas raízes de plantas inoculadas com *Az. brasilense*, *N. amazonense* e *Bur. vietnamiensis*, mas não foi identificado em plantas não inoculadas com BPCP. Este gênero de FMA apresenta menor demanda de carbono da planta em relação ao gênero *Glomus* (Morton; Redecker, 2001; Qiu *et al.*, 2021), enquanto possui um sistema micelial mais difundido para além das raízes (Treseder *et al.*, 2018; Qiu *et al.*, 2021). O gênero é relatado como facilitando a absorção de P para as plantas, sendo mais comum em solos de manejo orgânico (Gosling *et al.*, 2014; Dai *et al.*, 2014).

4.5 CONCLUSÃO

Em síntese, os resultados deste estudo demonstram que as inoculações de BPCP e coinoculações com o FMA *R. clarum* influenciam de maneiras distintas a cultura do feijão de inverno em campo sob plantio direto no cerrado brasileiro. Dependendo da espécie de microrganismo inoculada, foram constatados efeitos benéficos para o desenvolvimento, produtividade e nutrição da cultura.

Especificamente, foi demonstrado que a inoculação do FMA *R. clarum* aumentou a produtividade de grãos e a exportação de nutrientes pelos grãos (N, K, Mg e Fe). Quanto às bactérias, *Bur. vietnamiensis* aumentou o acúmulo de Cu na parte aérea, o número de vagens e de grãos por plantas, apesar de não ter influenciado a produtividade de grãos. A inoculação da bactéria *B. aryabhattai* proporcionou maior exportação de N e Fe pelos grãos. Em contraste, percebeu-se que as inoculações com *A. macrocytogenes* e *Azot. beijerinckii* reduziram o acúmulo de Zn no feijão, mas esse efeito foi compensado quando essas espécies foram coinoculadas com o FMA *R. clarum*.

Por outro lado, foi verificado efeito sinérgico das coinoculações de *Az. brasilense*, *Bur. vietnamiensis* e *B. aryabhattai* com o FMA *R. clarum* na nutrição das plantas, evidenciado pelo maior acúmulo de N e P na parte aérea do feijoeiro. Dessa forma, conclui-se que as coinoculações das bactérias *Az. brasilense*, *Bur. vietnamiensis* e *B. aryabhattai* com o FMA *R. clarum* foram as mais benéficas para o feijoeiro.

Finalmente, constatou-se que os tratamentos não alteraram a diversidade da comunidade microbiana das raízes e que as espécies inoculadas são de ocorrência nativa na área experimental. Ao mesmo tempo, foi verificado que cada inoculação ou coinoculação resultou em composições diferentes da comunidade microbiana das raízes, constatada pelo aparecimento de gêneros fixadores de N, nematófagos, entomopatogênicos e promotores de crescimento exclusivos nesses tratamentos.

Por fim, estudos posteriores devem ser realizados para verificar o desempenho destas inoculações e coinoculações, especialmente das que mais se destacaram, em diferentes condições ambientais (clima e solo), de modo a identificar-se quais as condições ambientais mais favoráveis para estas inoculações. Além disso, é preciso avaliar como essas inoculações alteram a comunidade microbiana das raízes do feijoeiro nestas variações ambientais e ao longo do ciclo da cultura.

REFERÊNCIAS

- AGAFONOVA, N. V.; DORONINA, N. V.; KAPARULLINA, E. N.; FEDOROV, D. N.; GAFAROV, A. B.; SAZONOVA, O. I.; SOKOLOV, S. L.; TROTSSENKO, Y. A. A novel *Delftia* plant symbiont capable of autotrophic methylotrophy. **Microbiology**, London, v. 86, p. 96-105, 2017.
- ALRAJHEI, K.; SALEH, I.; ABU-DIEYEH, M. H. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in plant roots and rhizosphere soil from different arid land environment of Qatar. **Plant Direct**, Hoboken, v. 6, n. 1, e369, 2022.
- ALTAAI, A. F.; SAAD, D. A. Response *Phaseolus vulgaris* L. plant to *Glomus mosseae* and *Azotobacter chroococcum*. **Diyala Agricultural Sciences Journal**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 52-59, 2024.
- AMBROSINI, A.; SOUZA, R.; PASSAGLIA, L. M. P. Ecological role of bacterial inoculants and their potential impact on soil microbial diversity. **Plant Soil**, Prague, v. 400, p. 193-207, 2016.
- AQUINO, G. S.; SHAHAB, M.; MORAES, L. A.; MOREIRA, A. Plant growth promoting rhizobacteria increased canola yield and root system. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 46, n. 7, p. 1400-1406, 2023.
- ARDAKANI, M. R.; 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 and Molecular Biology of Plants**, New Delhi, v. 17, p. 181-192, 2011.
- ARNETH, A.; DENTON, F.; AGUS, F.; ELBEHRI, A.; ERB, K.; OSMAN ELASHA, B.; RAHIMI, M.; ROUNSEVELL, M.; SPENCE, A.; VALENTINI, R. Framing and Context. In: SHUKLA, P. R.; SKEA, J.; BUENDIA, E. C.; MASSON-DELMOTTE, V.; PÖRTNER, H.-O.; ROBERTS, D. C.; ZHAI, P.; SLADE, R.; CONNORS, S.; VAN DIEMEN, R.; FERRAT, M.; HAUGHEY, E.; LUZ, S.; PATHAK, M.; PETZOLD, J.; PEREIRA, J. P.; VYAS, P.; HUNTLEY, E.; KISSICK, K.; BELKACEMI, M.; MALLEY, J. (Eds.). **Climate Change and Land: An IPCC Special Report on Climate Change, Desertification, Land Degradation, Sustainable Land Management, Food Security, and Greenhouse Gas Fluxes in Terrestrial Ecosystems**. Geneva: The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2019; p. 77-128.
- ARORA, D. **Mushrooms demystified**, 2. ed. Berkeley: Ten Speed Press, 1986.
- AROUMOUGAME, S.; GEETHA, T. M.; THANGARAJU, M. Exploitation of PGPR endophytic *Burkholderia* isolates to enhance organic agriculture. **American Journal of BioScience**, New York, v. 8, n. 3, p. 57-64, 2020.
- ATTAR, A. Effects of *Azorhizophilus paspali* and *Paenibacillus mucilaginosus* as bio-fertilizer and determination of nutritional efficiency by sensors. **Arabian Journal for Science and Engineering**, Heidelberg, v. 43, n. 7, p. 3477-3484, 2018.

AVIS, T. J.; BÉLANGER, R. R. Mechanisms and means of detection of biocontrol activity of *Pseudozyma* yeasts against plant-pathogenic fungi. **FEMS Yeast Research**, Oxford, v. 2, n. 1, p. 5-8, 2002.

AZCÓN, R.; BAREA, J. M. Synthesis of auxins, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter beijerinckii* related to effects produced on tomato plants. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 43, p. 609-619, 1975.

BAE, H. S.; RASH, B. A.; RAINEY, F. A.; NOBRE, M. F.; TIAGO, I.; COSTA, M.; MOE, W. M. Description of *Azospira restricta* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from groundwater. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, London, v. 57, p. 1521-1526, 2007.

BAER, M. L.; RAVEL, J.; CHUN, J.; HILL, R. T.; WILLIAMS, H. N. A proposal for the reclassification of *Bdellovibrio stolpii* and *Bdellovibrio starrii* into a new genus, *Bacteriovorax* gen. nov. as *Bacteriovorax stolpii* comb. nov. and *Bacteriovorax starrii* comb. nov., respectively. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, London, v. 50, n. 1, p. 219-224, 2000.

BAGHEL, V.; THAKUR, J. K.; YADAV, S. S.; MANNA, M. C.; MANDAL, A.; SHIRALE, A. O.; PATRA, A. K. Phosphorus and potassium solubilization from rock minerals by endophytic *Burkholderia* sp. strain FDN2-1 in soil and shift in diversity of bacterial endophytes of corn root tissue with crop growth stage. **Geomicrobiology Journal**, New York, v. 37, p. 550-563, 2020.

BARON, N. C.; POLLO, A. S., RIGOBELLO, E. C. *Purpureocillium lilacinum* and *Metarhizium marquandii* as plant growth-promoting fungi. **PeerJ**, London, v. 8, e9005, 2020.

BATOOL, S.; SAFDAR, M.; NASEEM, S.; SAMI, A.; SALEEM, R. S. Z.; LARRAINZAR, E.; SHAHID, I. A Novel *Enterococcus*-Based Nanofertilizer Promotes Seedling Growth and Vigor in Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plants**, [s. l.], v. 13, n. 20, 2875, 2024.

BAYMAN, P.; MOSQUERA-ESPINOSA, A. T.; SALADINI-APONTE, C. M.; HURTADO-GUEVARA, N. C.; VIERA-RUIZ, N. L. Age-dependent mycorrhizal specificity in an invasive orchid, *Oeceoclades maculata*. **American Journal of Botany**, Oxford, v. 103, n. 11, p. 1880-1889, 2016.

BERGER, F.; GUTJAHR, C. Factors affecting plant responsiveness to arbuscular mycorrhiza. **Current Opinion in Plant Biology**, Kidlington, v. 59, 101994, 2021.

BHATTACHARYYA, C.; BAKSHI, U.; MALLICK, I.; MUKHERJI, S.; BERA, B.; GHOSH, A. Genome-guided insights into the plant growth promotion capabilities of the physiologically versatile *Bacillus aryabhatai* strain AB211. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 8, 411, 2017.

- BLANCO, A. J. V.; COSTA, M. O.; SILVA, R. N.; ALBUQUERQUE, F. S.; MELO, A. T. O.; LOPES, F. A. C.; STEINDORFF, A. S.; BARBOSA, E. T.; ULHOA, C. J.; LOBO JUNIOR, M. Diversity and pathogenicity of *Rhizoctonia* species from the Brazilian Cerrado. **Plant disease**, St. Paul, v. 102, n. 4, p. 773-781, 2018.
- BONA, E.; LINGUA, G. ; MANASSERO, P. ; CANTAMESSA, S.; MARSANO, F.; TODESCHINI, V.; COPETTA, A.; D'AGOSTINO, G.; MASSA, N.; AVIDANO, L.; GAMALERO, E.; BERTA, G. AM fungi and PGP pseudomonads increase flowering, fruit production, and vitamin content in strawberry grown at low nitrogen and phosphorus levels. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 25, p. 181-193, 2015.
- BRESCIA, F.; PERTOT, I.; PUOPOLO, G. *Lysobacter*. In: AMARESAN, N.; SENTHIL-KUMAR, M.; ANNAPURNA, K.; KUMAR, K.; SANKARANA-RAYANAN, A. **Beneficial microbes in agro-ecology**: bacteria and fungi. Londres: Academic Press, 2020. p. 313-338.
- BRZEZINSKA, M. S.; JANKIEWICZ, U.; BURKOWSKA, A.; WALCZAK, M. Chitinolytic microorganisms and their possible application in environmental protection. **Current microbiology**, New York, v. 68, p. 71-81, 2014.
- BURDMAN, S.; KIGEL, J.; OKON, Y. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, p. 923-929, 1997.
- BURKETT-CADENA, M.; KOKALIS-BURELLE, N.; LAWRENCE, K.S.; VAN SANTEN, E.; KLOEPPER, J.W. Suppressiveness of root-knot nematodes mediated by rhizobacteria. **Biological Control**, New York, v. 47, p. 55-59, 2008.
- BUSHRA, R.; UZAIR, B.; MANZOOR, S.; AHMED, I. Draft genome of *Sporosarcina* sp. NCCP-2222T isolated from rhizosphere of mangrove plant *Ceriops tagal* reveals its potential as a plant biostimulant and constitutes a novel species. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Amsterdam, v. 47, 102543, 2023.
- BUXDORF, K.; RAHAT, I.; GAFNI, A.; LEVY, M. The epiphytic fungus *Pseudozyma aphidis* induces jasmonic acid-and salicylic acid/nonexpressor of PR1-independent local and systemic resistance. **Plant physiology**, Rockville, v. 161, n. 4, p. 2014-2022, 2013.
- BUZO, F. S.; MORTINHO, E. S.; SANTANA, T. L. L.; GARCIA, I. M.; CARVALHO, C. L. M.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Bean nutrition and development in the function of reduced phosphorus doses and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 45, n. 13, p. 1942-1952, 2022.
- CALVO, A.; REITZ, T.; SILLO, F.; MONTESANO, V.; CAÑIZARES, E.; ZAMPIERI, E.; MAHMOUDI, R.; GOHARI, G.; CHITARRA, W.; GIOVANNINI, L.; CONTE, A.; MENNONE, C.; PETRUZZELLI, G.; CENTRITTO, M.; GONZÁLEZ-GUZMÁN, M.; ARBONA, V.; FOTOPOULOS, V.; BALESTRINI, R. Interactions between an arbuscular mycorrhizal inoculum and the root-associated microbiome in shaping the response of *Capsicum annuum* “Locale di Senise” to different irrigation levels. **Plant Soil**, Prague, 2024.

CANPOLAT, S.; WOODWARD, S.; KURBETLI, İ. Molecular and pathological characterization of the isolates of *Rhizoctonia* spp. associated with dry bean (*Phaseolus vulgaris*) in Türkiye. **Journal of Plant Pathology**, Basel, v. 105, n. 3, p. 837-848, 2023.

CAO, L. L.; ZHANG, Y. Y.; LIU, Y. J.; YANG, T. T.; ZHANG, J. L.; ZHANG, Z. G.; SHEN, L.; LIU, J. Y.; YE, Y. H. Anti-phytopathogenic activity of sporothriolide, a metabolite from endophyte *Nodulisporium* sp. A21 in *Ginkgo biloba*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Basel, v. 129, p. 7-13, 2016.

CARBONELL, S. A. M.; CHIORATO, A. F.; BEZERRA, L. M. C.; GONÇALVES, J. G. R.; SILVA, D. A. D.; ESTEVES, J. A. D. F.; BENCHIMOL-REIS, L. L.; CARVALHO, C. R. L.; BARROS, V. L. N. P.; FREITAS, R. S.; TICELLI, M.; GALLO, P. B. IAC 1850: High yielding carioca common bean cultivar. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 19, p. 378-381, 2019.

CARVALHO, J. C. B. D.; CHAIBUB, A. A.; SOUSA, K. C. I.; BRITO, D. C. D.; FILIPPI, M. C. C. D.; KATO, L.; ARAÚJO, L. G. D. Efficiency of a new *Waitea circinata* extract against rice pathogens. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 51, e66916, 2021.

CARVALHO, J. C.; SOUSA, K. C.; BRITO, D. C.; CHAIBUB, A. A.; LUZINI, A. P.; CÔRTEZ, M. V.; FILIPPI, M. C. C.; KATO, L.; VAZ, B. G.; COSTA, H. B.; ROMÃO, W.; ARAÚJO, L. G. Biocontrol potential of *Waitea circinata*, an orchid mycorrhizal fungus, against the rice blast fungus. **Tropical plant pathology**, Heidelberg, v. 40, p. 151-159, 2015.

CASSÁN, F.; CONIGLIO, A.; LÓPEZ, G.; MOLINA, R.; NIEVAS, S.; CARLAN, C. N.; DONADIO, F.; TORRES, D.; ROSAS, S.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E.; ZORITA, M. D.; DE-BASHAN, L.; MORA, V. Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. **Biol Fertil Soils**, Heidelberg, v. 56, p. 461-479, 2020.

CHAUDHARY, D.; NARULA, N.; SINDHU, S. S.; BEHL, R. K. Plant growth stimulation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by inoculation of salinity tolerant *Azotobacter* strains. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, New Delhi, v. 19, p. 515-519, 2013.

CHEN, J.; LI, J.; YANG, Y.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; WANG, P. Effects of conventional and organic agriculture on soil arbuscular mycorrhizal fungal community in low-quality farmland. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 13, 914627, 2022.

CHEN, W.; SUN, Q.; WANG, J.; WU, Y.; ZHU, B.; QIN, L. Colonization by the endophytic fungus *Phyllosticta fallopiae* combined with the element Si promotes the growth of *Dendrobium nobile*. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 274, 133343, 2024.

CHHETRI, G.; KIM, I.; KIM, J.; SO, Y.; SEO, T. *Chryseobacterium tagetis* sp. nov., a plant growth promoting bacterium with an antimicrobial activity isolated from the roots of medicinal plant (*Tagetes patula*). **The Journal of Antibiotics**, London, v. 75, n. 6, p. 312-320, 2022.

CHIMAL-SÁNCHEZ, E.; SENÉS-GUERRERO, C.; VARELA, L.; MONTAÑO, N. M.; GARCÍA-SÁNCHEZ, R.; PACHECO, A. *Septoglomus mexicanum*, a new species of arbuscular mycorrhizal fungi from semiarid regions in Mexico. **Mycologia**, Philadelphia, v. 112, n. 1, p. 121-132, 2020.

CHO, S. H.; LEE, K. S.; SHIN, D. S.; HAN, J. H.; PARK, K. S.; LEE, C. H.; PARK, K. H.; KIM, S. B. Four new species of *Chryseobacterium* from the rhizosphere of coastal sand dune plants, *Chryseobacterium elymi* sp. nov., *Chryseobacterium hagamense* sp. nov., *Chryseobacterium lathyri* sp. nov. and *Chryseobacterium rhizosphaerae* sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, Muenchen, v. 33, p. 122-127, 2010.

CHUONG, N. V.; TRI, T. L. K. Isolation and Characterization Identification of Edophytic Nitrogen-Fixing Bacteria from Peanut Nodules. **International Journal of Microbiology**, New Delhi, v. 2024, n. 1, 8973718, 2024.

COHEN, R.; PIVONIA, S.; BURGER, Y.; EDELSTEIN, M.; GAMLIEL, A.; KATAN, J. Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. **Plant Disease**, St. Paul, v. 84, n. 5, p. 496-505, 2000.

COLLADO, J.; GONZALEZ, A.; PLATAS, G.; STCHIGEL, A. M.; GUARRO, J.; PELAEZ, F. *Monosporascus ibericus* sp. nov., an endophytic ascomycete from plants on saline soils, with observations on the position of the genus based on sequence analysis of the 18S rDNA. **Mycological Research**, [s. l.], v. 106, n. 1, p. 118-127, 2002.

COLLINSON, S. K.; ABDALLAH, M. A.; PAGE, W. J. Temperature-sensitive production of azoverdin, the pyoverdin-like siderophore of *Azomonas macrocytogenes* ATCC 12334. **Microbiology**, London, v. 136, n. 11, p. 2297-2305, 1990.

CORSINI, D. C. D. C. **Inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* e *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada em cobertura em feijoeiro de inverno irrigado em sistema plantio direto**. Orientador: Orivaldo Arf. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2014.

DAHLIN, P.; EDER, R.; CONSOLI, E.; KRAUSS, J.; KIEWNICK, S. Integrated control of *Meloidogyne incognita* in tomatoes using fluopyram and *Purpureocillium lilacinum* strain 251. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 124, 104874, 2019.

DAI, M.; HAMEL, C.; BAINARD, L. D.; ARNAUD, M. S.; GRANT, C. A.; LUPWAYI, N. Z.; MALHI, S. S.; LEMKE, R. Negative and positive contributions of arbuscular mycorrhizal fungal taxa to wheat production and nutrient uptake efficiency in organic and conventional systems in the Canadian prairie. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 74, p. 156-166, 2014.

DAKHEEL, F. A.; GAMAZ, B. A.; ABDULHAY, M. M.; ABDALMOOHSIN, R. G.; LAHUF, A. A. A new Report of *Trichocladium griseum* in Iraq: Morphological and Molecular Descriptions. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, Bristol, v. 1262, n. 3, 032008, 2023.

DARDANELLI, M. S.; MANYANI, H.; GONZÁLEZ-BARROSO, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; GIL-SERRANO, A. M.; ESPUNY, M. R.; LÓPEZ-BAENA, F. J.; BELLOGÍN, R. A.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F. J. Effect of the presence of the plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) *Chryseobacterium balustinum* Aur9 and salt stress in the pattern of flavoids exuded by soybean roots. **Plant Soil**, Prague, v. 328, p. 483-493, 2010.

DASHADI, M.; KHOSRAVI, H.; MOEZZI, A.; NADIAN, H.; HEIDARI, M.; RADJABI, R. Co-inoculation of *Rhizobium* and *Azotobacter* on growth of faba bean under water deficit conditions. **American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Sciences**, Dubai, v. 11, n. 3, p. 314-319, 2011.

DENG, C.; ZHANG, N.; LIANG, X.; HUANG, T.; LI, B. *Bacillus aryabhattai* LAD impacts rhizosphere bacterial community structure and promotes maize plant growth. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 102, p. 6650-6657, 2022.

DING, W.; WANG, S.; QIN, P.; FAN, S.; SU, X.; CAI, P.; LU, J.; CUI, H.; WANG, M.; SHU, Y.; WANG, Y.; FU, H. H.; ZHANG, Y. Z.; LI, Y. X.; ZHANG, W. Anaerobic thiosulfate oxidation by the *Roseobacter* group is prevalent in marine biofilms. **Nature Communications**, London, v. 14, n. 1, 2033, 2023.

DJEMIEL, C.; DEQUIEDT, S.; KARIMI, B.; COTTIN, A.; HORRIGUE, W.; BAILLY, A.; BOUTALEB, A.; SADET-BOURGETEAU, S.; MARON, P. A.; PRÉVOST-BOURÉ, N. C.; RANJARD, L.; TERRAT, S. Potential of meta-omics to provide modern microbial indicators for monitoring soil quality and securing food production. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 13, 889788, 2022.

DÖBEREINER, J.; DAY, J.M.; DART, P. J. Atividade da nitrogenase e sensibilidade ao oxigênio da associação *Paspalum notatum*-*Azotobacter paspali*. **The Journal of General Microbiology**, London, v. 71, p. 103-116, 1972.

DOURADO, M. N.; NEVES, A. A. C.; SANTOS, D. S.; ARAÚJO, W. L. Biotechnological and Agronomic Potential of Endophytic Pink-Pigmented Methylo-trophic *Methylobacterium* spp. **BioMed Research International**, London, v. 2015, n. 1, 909016, 2015.

DUC, N. H.; CSINTALAN, Z.; POSTA, K. Arbuscular mycorrhizal fungi mitigate negative effects of combined drought and heat stress on tomato plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 132, p. 297-307, 2018.

ERRASTI, A.; NOVAS, M. V.; CARMARÁN, C. C. Plant-fungal association in trees: Insights into changes in ecological strategies of *Peroneutypa scoparia* (Diatrypaceae). **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, [s. l.], v. 209, n. 12, p. 704-710, 2014.

ESPINOSA-VICTORIA, D.; LÓPEZ-REYES, L.; CARCAÑO-MONTIEL, M. G.; SERRET-LÓPEZ, M. The *Burkholderia* genus: between mutualism and pathogenicity. **Revista mexicana de fitopatología**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 337-359, 2020.

ETESAMI, H.; JEONG, B. R.; GLICK, B. R. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing bacteria, and silicon to P uptake by plant. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 12, 699618, 2021.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FILIPINI, L. D.; PILATTI, F. K.; MEYER, E.; VENTURA, B. S.; LOURENZI, C. R.; LOVATO, P. E. Application of *Azospirillum* on seeds and leaves, associated with *Rhizobium* inoculation, increases growth and yield of common bean. **Archives of Microbiology**, Heidelberg, v. 203, p. 1033-1038, 2021.

FLORES-VEGA, V. R.; LARA-ZAVALA, B. A.; JARILLO-QUIJADA, M. D.; FERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, J. L.; ALCÁNTAR-CURIEL, M. D.; VARGAS-ROLDÁN, S. Y.; ARES, M. A.; CRUZ, M. A.; MORFÍN-OTERO, R.; RODRÍGUEZ-NORIEGA, E.; SANTOS-PRECIADO, J. I.; ROSALES-REYES, R. *Burkholderia vietnamiensis* causing infections in noncystic fibrosis patients in a tertiary care hospital in Mexico. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, Philadelphia, v. 105, n. 2, 115866, 2023.

GAISIN, V. A.; BURGANSKAYA, E. I.; GROUZDEV, D. S.; OSIPOVA, N. S.; ASHIKHMIN, A. A.; SINETOVA, M. A.; KRUTKINA, M. S.; BRYANTSEVA, I. A.; SUKHACHEVA, M. V.; KOCHETKOVA, T. V.; KOZIAEVA, V. V.; KALASHNIKOV, A. M.; GORLENKO, V. M. '*Candidatus Oscillochloris fontis*': a novel mesophilic phototrophic Chloroflexota bacterium belonging to the ubiquitous *Oscillochloris* genus. **FEMS microbiology letters**, Oxford, v. 366, n. 8, fnz097, 2019.

GALUSHKO, A.; KUEVER, J. *Desulfobulbus*. In: WHITMAN, W. B.; AHARAL, D. R.; CHRISTENSEN, H.; CHUVOCHINA, M.; DEDYSH, S.; GASPARICH, G. E.; HUGENHOTLZ, P.; REYSENBACH, A.-L.; ROMALDE, J. L.; TRUJILLO, M. E.; VANDAMME, P.; VENTER, S. N.; XU, X.-W. **Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria**. Nova Jersey: Wiley, 2019.

GARCÍA, J. A. L.; PROBANZA, A.; RAMOS, B.; BARRIUSO, J.; MAÑERO, F. J. G. Effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) and *Sinorhizobium fredii* on biological nitrogen fixation, nodulation and growth of *Glycine max* cv. Osumi. **Plant Soil**, Prague, v. 267, p. 143-153, 2004.

GARÉ, L. M. **Reinoculação de *Rhizobium tropici* no desenvolvimento e produtividade do feijoeiro em sistema plantio direto em fase inicial e consolidado**. Orientador: Orivaldo Arf. 2020. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Ilha Solteira, 2020.

GILBERT, J.; TEKAUZ, A.; WOODS, S. M. Effect of *Phaeosphaeria nodorum*-induced seed shrivelling on subsequent wheat emergence and plant growth. **Euphytica**, Dordrecht, v. 82, p. 9-16, 1995.

GITTI, D. C.; ARF, O.; PORTUGAL, J. P.; CORSINI, D. C. D. C.; RODRIGUES, R. A. F.; KANEKO, F. H. Coberturas vegetais, doses de nitrogênio e inoculação de sementes com *Azospirillum brasilense* em arroz de terras altas no sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 4, p. 509-517, 2012a.

GITTI, D. D. C.; ARF, O.; KANEKO, F. H.; RODRIGUES, R. A. F.; BUZETTI, S.; PORTUGAL, J. R.; CORSINI, D. C. D. C. Inoculation of *Azospirillum brasilense* cultivars of beans types in winter crop. **Revista Agrária**, [s. l.], v. 5, n. 15, p. 36-46, 2012b.

GLIENKE, C.; PEREIRA, O. L.; STRINGARI, D.; FABRIS, J.; KAVA-CORDEIRO, V.; GALLI-TERASAWA, L.; CUNNINGTON, J.; SHIVAS, R. G.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. Endophytic and pathogenic *Phyllosticta* species, with reference to those associated with Citrus Black Spot. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 47-56, 2011.

GOETTEL, M. S.; KOIKE, M.; KIM, J. J.; AIUCHI, D.; SHINYA, R.; BRODEUR, J. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. **Journal of invertebrate pathology**, Maryland Heights, v. 98, n. 3, p. 256-261, 2008.

GOSLING, P.; PROCTOR, M.; JONES, J.; BENDING, G. D. Distribution and diversity of *Paraglomus* spp. in tilled agricultural soils. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 24, 1-11, 2014.

GOVINDARAJAN, M.; BALANDREAU, J.; KWON, S. W.; WEON, H. Y.; LAKSHMINARASIMHAN, C. Effects of the inoculation of *Burkholderia vietnamsensis* and related endophytic diazotrophic bacteria on grain yield of rice. **Microbial Ecology**, New York, v. 55, p. 21-37, 2008.

GRZYB, A.; WOLNA-MARUWKA, A.; NIEWIADOMSKA, A. The significance of microbial transformation of nitrogen compounds in the light of integrated crop management. **Agronomy**, Madison, v. 11, n. 7, 1415, 2021.

GUPTA, R.; SOMANATHAN, E.; DEY, S. Global warming and local air pollution have reduced wheat yields in India. **Climatic Change**, Dordrecht, v. 140, p. 593-604, 2017.

HAMAYUN, M.; KHAN, S. A.; AHMAD, N.; TANG, D. S.; KANG, S. M.; NA, C. I.; SOHN, E. Y.; HWANG, Y. H.; SHIN, D. H.; LEE, B. H.; KIM, J. G.; LEE, I. J. *Cladosporium sphaerospermum* as a new plant growth-promoting endophyte from the roots of *Glycine max* (L.) Merr. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 25, p. 627-632, 2009.

HAN, J.; SUN, L.; DONG, X.; CAI, Z.; SUN, X.; YANG, H.; WANG, Y.; SONG, W. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. **Systematic and applied microbiology**, Muenchen, v. 28, n. 1, p. 66-76, 2005.

HAN, J.; ZHANG, Y.; XI, H.; ZENG, J.; PENG, Z.; ALI, G.; LIU, Y. Maize, wheat, and soybean root traits depend upon soil phosphorus fertility and mycorrhizal status. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 33, p. 359-368, 2023.

HARTMANN, A.; FU, H.; BURRIS, R. H. Regulation of nitrogenase activity by ammonium chloride in *Azospirillum* spp. **Journal of bacteriology**, Washington, v. 165, p. 864-870, 1986.

HASSAN, N.; ELSHARKAWY, M. M.; VILLAJUAN-ABGONA, R.; HYAKUMACHI, M. A nonpathogenic species of binucleate *Rhizoctonia* inhibits the formation of infection structures caused by *Rhizoctonia solani* on cucumber. **Acta Agriculturae Scandinavica**, Stockholm, v. 65, n. 3, p. 208-214.

HASSAN, S. R. U.; STROBEL, G. A.; GEARY, B.; SEARS, J. An endophytic *Nodulisporium* sp. from Central America producing volatile organic compounds with both biological and fuel potential. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 23, n. 1, p. 29-35, 2013.

HAYWARD, A. C.; FEGAN, N.; FEGAN, M.; STIRLING, G. R. *Stenotrophomonas* and *Lysobacter*: ubiquitous plant-associated gamma-proteobacteria of developing significance in applied microbiology. **Journal of applied microbiology**, Chichester, v. 108, n. 3, p. 756-770, 2010.

HE, S.; GUO, H.; HE, Z.; YANG, C.; YU, T.; CHAI, Q.; LU, L. Interaction of *Lolium perenne* and *Hyphomicrobium* sp. GHH enhances the removal of 17 α -ethinyestradiol (EE2) from soil. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 19, p. 1297-1305, 2019.

HERNANDEZ, M.; CHAILLOUX, M. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosfericas como alternativa a la nutricion mineral del tomate. **Cult. Trop.**, [s. l.], v. 25, p. 5-16, 2004.

HERNANDEZ-PEREZ, A.; VALDÉS-AGUILAR, L. A.; CARDENAS-FLORES, A.; IBARRA-JIMENEZ, L.; MÉNDEZ-ARGÜELLO, B. Photosynthesis, growth and yield of *Solanum lycopersicum* as influenced by the use of microbial biofertilizers. **Agrochimica: International Journal of Plant Chemistry, Soil Science and Plant Nutrition of the University of Pisa**, [s. l.], v. 61, n. 2, p. 95-109, 2017.

HUANG, Y.; LIN, Y.; ZHANG, L.; WU, F.; ZHANG, Y.; HUANG, S. Effects of Interaction between *Claroideogolmus etuicatum* and *Bacillus aryabhattai* on the Utilization of Organic Phosphorus in *Camellia oleifera* Abel. **Journal of Fungi**, Basel, v. 9, n. 10, 977, 2023.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 39, p. 88-93, 2003.

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

IBIJBLEN, J.; URQUIAGA, S.; ISMAILI, M.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition and nitrogen fixation of three varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris*). **New phytologist**, Chichester, v. 134, n. 2, p. 353-360, 1996.

ISLAM, M. T. Potentials for Biological Control of Plant Diseases by *Lysobacter* spp., with Special Reference to Strain SB-K88. In: MAHESHWARI, D. K. **Bacteria in Agrobiological: Plant Growth Responses**, 1. ed., 2011. p. 335-363.

IVANOVSKY, R. N.; FAL, Y. I.; BERG, I. A.; UGOLKOVA, N. V.; KRASILNIKOVA, E. N.; KEPPE, O. I.; ZAKHARCHUC, L. M.; ZYAKUN, A. M. Evidence for the presence of the reductive pentose phosphate cycle in a filamentous anoxygenic photosynthetic bacterium, *Oscillochloris trichoides* strain DG-6. **Microbiology**, [s. l.], v. 145, n. 7, p. 1743-1748, 1999.

JANARTHINE, S. R. S.; EGANATHAN, P. Plant growth promoting of endophytic *Sporosarcina aquimarina* SJA16103 isolated from the pneumatophores of *Avicennia marina* L. **International journal of microbiology**, New Delhi, v. 2012, n. 1, 532060, 2012.

JENSEN, H. L. Non-symbiotic nitrogen fixation. In: BARTHOLOMEW, W. V.; CLARK, F. E. (ed.). **Soil Nitrogen**, 3. ed. Madison: American Society of Agronomy, 1965. p. 436-480.

JENSEN, H. L. Notes on the biology of *Azotobacter*. **Proceedings of the Society for Applied Bacteriology**, Chichester, v. 14, n. 1, p. 89-94, 1951.

JL, B.; BEVER, J. D. Plant preferential allocation and fungal reward decline with soil phosphorus: implications for mycorrhizal mutualism. **Ecosphere**, Pleasant Hill, v. 7, n. 5, e01256, 2016.

JIE, W.; YANG, D.; YAO, Y.; GUO, N. Effects of *Rhizophagus intraradices* on soybean yield and the composition of microbial communities in the rhizosphere soil of continuous cropping soybean. **Scientific Reports**, London, v. 12, 17390, 2022.

JIMÉNEZ-GUERRERO, I.; PÉREZ-MONTAÑO, F.; MONREAL, J. A.; PRESTON, G. M.; FONES, H.; VIOQUE, B.; OLLERO, F. J.; LÓPEZ-BAENA, F. J. The *Sinorhizobium (Ensifer) fredii* HH103 type 3 secretion system suppresses early defense responses to effectively nodulate soybean. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 28, p. 790-799, 2015.

JOHNSON, N. C.; WILSON, G. W.; WILSON, J. A.; MILLER, R. M.; BOWKER, M. A. Mycorrhizal phenotypes and the Law of the Minimum. **New Phytologist**, Chichester, v. 205, n. 4, p. 1473-1484, 2015.

JOSEPH, S.; NAIR, N. N. *Nodulisporium terra*: a new fungal species explored from soil of paddy field, Ramankari, Kerala, India. **Journal of Mycopathological Research**, West Bengal, v. 59, n. 1, p. 95-97, 2021.

KAMADA, S.; WAKABAYASHI, R.; NAGANUMA, T. Phylogenetic revisit to a review on predatory bacteria. **Microorganisms**, Basel, v. 11, n. 7, 1673, 2023.

KAMMERER, S. J.; BURPEE, L. L.; HARMON, P. F. Identification of a new *Waitea circinata* variety causing basal leaf blight of seashore paspalum. **Plant Disease**, St. Paul, v. 95, n. 5, p. 515-522, 2011.

KLOOS, K.; FESEFELDT, A.; GLIESCHE, C. G.; BOTHE, H. DNA-probing indicates the occurrence of denitrification and nitrogen fixation genes in *Hyphomicrobium*. Distribution of denitrifying and nitrogen fixing isolates of *Hyphomicrobium* in a sewage treatment plant. **FEMS microbiology ecology**, Oxford, v. 18, n. 3, p. 205-213, 1995.

KOJIMA, H.; FUKUI, M. *Sulfuriflexus mobilis* gen. nov., sp. nov., a sulfur-oxidizing bacterium isolated from a brackish lake sediment. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, London, v. 66, n. 9, p. 3515-3518, 2016.

KUMAR, A.; VANDANA; SINGH, M.; SINGH, P. P.; SINGH, S. K.; SINGH, P. K.; SINGH, P. K.; PANDEY, K. D. Isolation of plant growth promoting rhizobacteria and their impact on growth and curcumin content in *Curcuma longa* L. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Amsterdam, v. 8, p. 1-7, 2016.

KUMAR, C. S.; JACOB, T. K.; DEVASAHAYAM, S.; THOMAS, S.; GEETHU, C. Multifarious plant growth promotion by an entomopathogenic fungus *Lecanicillium psalliotae*. **Microbiological Research**, Muenchen, v. 207, p. 153-160, 2018.

LEE, K. E.; RADHAKRISHNAN, R.; KANG, S. M.; YOU, Y. H.; JOO, G. J.; LEE, I. J.; KO, J.-H.; KIM, J.-H.; KIM, J. H. *Enterococcus faecium* LKE12 cell-free extract accelerates host plant growth via gibberellin and indole-3-acetic acid secretion. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 25, n. 9, p. 1467-1475, 2015.

LEITE, R. A.; MARTINS, L. C.; FERREIRA, L. V. D. S. F.; BARBOSA, E. S.; ALVES, B. J. R.; ZILLI, J. E.; ARAÚJO, A. P.; CONCEIÇÃO JESUS, E. Co-inoculation of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* promotes growth and yield of common beans. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 172, 104356, 2022.

LEMOS, L. B.; MINGOTTE, F. L. C.; FARINELLI, R. Cultivares. In: ARF, O.; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; FERRARIA, S. P. (Eds.). **Aspectos gerais da cultura do feijão**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais – (FEPAF), 2015. p. 181-207.

LI, Z.; ZHU, H. *Chryseobacterium vietnamense* sp. nov., isolated from forest soil International. **Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 62, p. 827-831, 2012.

- LOPES, M. T. G.; LOPES, R.; BRUNELLI, K. R.; SILVA, H. P. D.; MATIELLO, R. R.; CAMARGO, L. E. A. Genetic control of resistance to *Phaeosphaeria* leaf spot in maize. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, p. 605-611, 2007.
- MA, M.; ONGENA, M.; WANG, Q.; GUAN, D.; CAO, F.; JIANG, X.; LI, J. Chronic fertilization of 37 years alters the phylogenetic structure of soil arbuscular mycorrhizal fungi in Chinese Mollisols. **Amb Express**, Heidelberg, v. 8, p. 1-10, 2018.
- MAGALHÃES, F. M.; BALDANI, J. I.; SOUTO, S. M.; KUYKENDALL, J. R.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 55, p. 417-430, 1983.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.
- MARTINEZ-ROMERO, E. Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspectives. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 252, p. 11-23, 2003.
- MARTINS, M. R.; JANTALIA, C. P.; REIS, V. M.; DÖWICH, I.; POLIDORO, J. C.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Impact of plant growth-promoting bacteria on grain yield, protein content, and urea-¹⁵N recovery by maize in a Cerrado Oxisol. **Plant Soil**, Prague, v. 422, p. 239-250, 2018a.
- MARTINS, S. A.; SCHURT, D. A.; SEABRA, S. S.; MARTINS, S. J.; RAMALHO, M. A. P.; MOREIRA, F. M. S.; SILVA, J. C. P.; SILVA, J. A. G.; MEDEIROS, F. H. V. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth promotion and biocontrol by rhizobacteria under *Rhizoctonia solani* suppressive and conducive soils. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 127, p. 129-135, 2018b.
- MAWARDA, P. C.; LE ROUX, X.; VAN ELSAS, J. D.; SALLES, J. F. Deliberate introduction of invisible invaders: a critical appraisal of the impact of microbial inoculants on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 148, 107874, 2020.
- MEDINA, J. F. A.; KOHASHI-SHIBATA, J.; TREJO-LÓPEZ, C.; ACOSTA GALLEGOS, J. A.; CADENA ÍÑIGUEZ, J.; PEÑA DEL RÍO, Á. Inoculation of *Phaseolus vulgaris* L. with three microorganisms and their effect in drought tolerance. **Agricultura Técnica en México**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 125-137, 2005.
- MELO FILHO, L. C.; HENRIQUE, I. G.; ARF, O.; OLIVEIRA, D. J. L. S. F.; LIMA, A. A.; MACEDO, M. A. A.; MENDES, J. P.; OLIVEIRA, R. B. D. L. Performance of beans after inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium tropici*, and nitrogen and molybdenic fertilizations under amazonian conditions. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 41, n. 4, p. 1177-1188, 2020.
- MESSIAS, M.; ASOBIA, P. C.; FERREIRA, E. P. D. B. Rhizobia and azospirilla co-inoculation boosts growth and productivity of common bean. **International Journal of Agriculture and Biology**, Faisalabad, v. 29, p. 65-73, 2023.

MICHELIS, J.; DOMBRECHT, B.; VERMEIREN, N.; XI, C.; LUYTEN, E.; VAN-
DERLEYDEN, J. *Phaseolus vulgaris* is a non-selective host for nodulation. **FEMS Mi-
crobiology Ecology**, Oxford, v. 26, n. 3, p. 193-205, 1998.

MORETTI, L. G.; CRUSCIOL, C. A. C.; LEITE, M. F. A.; MOMESSO, L.;
BOSSOLANI, J. W.; COSTA, O. Y. A.; HUNGRIA, M.; KURAMAE, E. E. Diverse
bacterial consortia: key drivers of rhizosoil fertility modulating microbiome functions,
plant physiology, nutrition, and soybean grain yield. **Environmental Microbiome**,
London, v. 19, 50, 2024.

MORTON, J. B.; REDECKER, D. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae
and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on con-
cordant molecular and morphological characters. **Mycologia**, Heidelberg, v. 93, n. 1, p.
181-195, 2001.

MURUBE, E.; BELEGGIA, R.; PACETTI, D.; NARTEA, A.; FRASCARELLI, G.;
LANZAVECCHIA, G.; BELLUCCI, E.; NANNI, L.; GIOIA, T.; MARCIELLO, U.;
ESPOSITO, S.; FORESI, G.; LOGOZZO, G.; FREGA, G. N.; BITOCCHI, E.; PAPA,
R. Characterization of nutritional quality traits of a common bean germplasm collection.
Foods, Basel, v. 10, 1572, 2021.

MYERS, S. S.; SMITH, M. R.; GUTH, S.; GOLDEN, C. D.; VAITLA, B.; MUELLER,
N. D.; DANGOUR, A. D.; HUYBERS, P. Climate change and global food systems: Po-
tential impacts on food security and undernutrition. **Annual Review of Public Health**,
Palo Alto, v. 38, p. 259-277, 2017.

NALAYINI, P.; SANKARANARAYANAN, K.; ANANDHAM, R. Bio inoculants for
enhancing the productivity and nutrient uptake of winter irrigated cotton (*Gossypium
hirsutum*) under graded levels of nitrogen and phosphatic fertilizers. **Indian J. Agron.**,
v. 55, p. 64-67, 2010.

NAN, Z. B.; LONG, P. G.; SKIPP, R. A.; HOPCROFT, D. H. Microscopia da invasão
de raízes de trevo vermelho por *Trichocladium basicola*, e efeitos de benomyl e proclo-
raz. **Plant Pathology**, Chichester, v. 41, n. 4, p. 449-461, 1992.

NEHELA, Y.; MAZROU, Y. S.; ALSHAAL, T.; RADY, A. M.; EL-SHERIF, A. M.;
OMARA, A. E. D.; EL-MONEM, A. M. A.; HAFEZ, E. M. The integrated amendment
of sodic-saline soils using biochar and plant growth-promoting rhizobacteria enhances
maize (*Zea mays* L.) resilience to water salinity. **Plants**, [s. l.], v. 10, n. 9, 1960, 2021.

NELSON, G. C.; ROSEGRANT, M. W.; KOO, J.; ROBERTSON, R.; SULSER, T.;
ZHU, T.; RINGLER, C.; MSANGI, S.; PALAZZO, A.; BATKA, M.; MAGALHAES,
M.; VALMONTE-SANTOS, R.; EWING, M.; LEE, D. **Climate Change**. Impact on
Agriculture and Costs of Adaptation. Washington: International Food Policy Research
Institute, 2009.

NEW, P. B.; TCHAN, Y. T. *Azomonas macrocytogenes* (ex Baillie, Hodgkiss, and Nor-
ris 1962, 118) nom. rev. **International Journal of Systematic and Evolutionary Mi-
crobiology**, London, v. 32, n. 3, p. 381-382, 1982.

NOGALES, A.; ROTTIER, E.; CAMPOS, C.; VICTORINO, G.; COSTA, J. M.; COITO, J. L.; PEREIRA, S.; VIEGAS, W.; LOPES, C. The effects of field inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi through rye donor plants on grapevine performance and soil properties. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 313, 107369, 2021.

NOVAIS, C. B.; BORGES, W. L.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SBRANA, C.; GIOVANNETTI, M.; SIQUEIRA, J. O. **Técnicas básicas em micorrizas arbusculares**. Lavras: Ed. da UFLA, 2017.

ORMENO-ORRILLO, E.; VINUESA, P.; ZUNIGA-DAVILA, D.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. Molecular diversity of native bradyrhizobia isolated from Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Peru. **Systematic and applied microbiology**, Muenchen, v. 29, n. 3, p. 253-262, 2006.

PAL, G.; SAXENA, S.; KUMAR, K.; VERMA, A.; SAHU, P. K.; PANDEY, A.; WHITE, J. F.; VERMA, S. K. Endophytic *Burkholderia*: Multifunctional roles in plant growth promotion and stress tolerance. **Microbiological Research**, Muenchen, v. 265, 127201, 2022.

PARK, H. E.; NEBERT, L.; KING, R. M.; BUSBY, P.; MYERS, J. R. Influence of organic plant breeding on the rhizosphere microbiome of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 14, 1251919, 2023b.

PARK, Y.; MAENG, S.; SRINIVASAN, S. Isolation and characterization of four unrecorded wild yeasts from the soils of Republic of Korea in winter. **Journal of Species Research**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 197-202, 2023a.

PATIL, S.; SRIRAM, S. Biological control of *Fusarium* wilt in crop plants using non-pathogenic isolates of *Fusarium* species. **Indian Phytopathology**, Heidelberg, v. 73, n. 1, p. 11-19, 2020.

PAUVERT, C.; FORT, T.; CALONNEC, A.; FAIVRE D'ARCIER, J.; CHANCEREL, E.; MASSOT, M.; CHIQUET, J.; ROBIN, S.; BOHAN, D. A.; VALLANCE, J.; VACHER, C. Microbial association networks give relevant insights into plant pathobiomes. **BioRxiv**, 2020.

PEIX, A.; MATEOS, P. F.; RODRIGUEZ-BARRUECO, C.; MARTINEZ-MOLINA, E.; VELAZQUEZ, E. Growth promotion of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a strain of *Burkholderia cepacia* under growth chamber conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 14, p. 1927-1935, 2001.

PÉREZ-JARAMILLO, J. E.; CARRIÓN, V. J.; BOSSE, M.; FERRÃO, L. F.; HOLLANDER, M.; GARCIA, A. A.; RAMÍREZ, C. A.; MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J. M. Linking rhizosphere microbiome composition of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* to genotypic and root phenotypic traits. **The ISME journal**, Oxford, v. 11, n. 10, p. 2244-2257, 2017.

PÉREZ-JARAMILLO, J. E.; HOLLANDER, M.; RAMÍREZ, C. A.; MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J. M.; CARRIÓN, V. J. Deciphering rhizosphere microbiome assembly of wild and modern common bean (*Phaseolus vulgaris*) in native and agricultural soils from Colombia. **Microbiome**, London, v. 7, p. 1-16, 2019.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 15. ed. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (Fealq), 2022. 451 p.

PITT, W. M.; ÚRBEZ-TORRES, J. R.; TROUILLAS, F. P. *Dothiorella vidmadera*, a novel species from grapevines in Australia and notes on *Spencermartinsia*. **Fungal Diversity**, Dordrecht, v. 61, p. 209-219, 2013.

POVEDA, J.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 105, p. 8629-8645, 2021.

QIU, Y.; GUO, L.; XU, X.; ZHANG, L.; ZHANG, K.; CHEN, M.; ZHAO, Y.; BURKEY, K. O.; SHEW, H. D.; ZOBEL, R. W.; ZHANG, Y.; HU, S. Warming and elevated ozone induce tradeoffs between fine roots and mycorrhizal fungi and stimulate organic carbon decomposition. **Science advances**, Washington, v. 7, n. 28, eabe9256, 2021.

RAIJ, B. van.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química do solo para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2001. 285 p.

RAMAMOORTHY, S.; SASS, H.; LANGNER, H.; SCHUMANN, P.; KROPPENSTEDT, R. M.; SPRING, S.; OVERMANN, J.; ROSENZWEIG, R. F. *Desulfosporosinus lacus* sp. nov., a sulfate-reducing bacterium isolated from pristine freshwater lake sediments. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, London, v. 56, n. 12, p. 2729-2736, 2006.

RĂUT, I.; CĂLIN, M.; CAPRĂ, L.; GURBAN, A. M.; DONI, M.; RADU, N.; JECU, L. *Cladosporium* sp. isolate as fungal plant growth promoting agent. **Agronomy**, Madison, v. 11, n. 2, 392, 2021.

RAZAKATIANA, A. T. E.; TRAP, J.; BAOHANTA, R. H.; RAHERIMANDIMBY, M.; LE ROUX, C.; DUPONNOIS, R.; RAMANANKIERANA, H.; BECQUER, T. Benefits of dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on *Phaseolus vulgaris* planted in a low-fertility tropical soil. **Pedobiologia**, Muenchen, v. 83, 150685, 2020.

REINHOLD-HUREK, B.; HUREK, T. Reassessment of the taxonomic structure of the diazotrophic genus *Azoarcus* sensu lato and description of three new genera and new species, *Azovibrio restrictus* gen. nov., sp. nov., *Azospira oryzae* gen. nov., sp. nov. and *Azonexus fungiphilus* gen. nov., sp. nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, London, v. 50, n. 2, p. 649-659, 2000.

REIS, V.; RIOS, F. A.; BRAZ, G. B. P.; CONSTANTIN, J.; HIRATA, E. S.; BIFFE, D. F. Agronomic performance of sugarcane inoculated with *Nitrospirillum amazonense* (BR11145). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 33, p. 918-926, 2020.

RICHARDSON, A. E.; SIMPSON, R. J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. **Plant Physiology**, Rockville, v. 156, n. 3, p. 989-996, 2011.

RIGOBELLO, E. C.; NICODEMO, D.; BABALOLA, O. O.; DESOIGNIES, N. *Purpureocillium lilacinum* as an Agent of Nematode Control and Plant Growth-Promoting Fungi. **Agronomy**, Madison, v. 14, n. 6, 1225, 2024.

RISING, J.; DEVINENI, N. Crop switching reduces agricultural losses from climate change in the United States by half under RCP 8.5. **Nature Communications**, London, v. 11, 4991, 2020.

RUYTINX, J.; KAFLE, A.; USMAN, M.; CONINX, L.; ZIMMERMANN, S. D.; GARCIA, K. Micronutrient transport in mycorrhizal symbiosis; zinc steals the show. **Fungal biology reviews**, London, v. 34, n. 1, p. 1-9, 2020.

RYAN, M. H.; GRAHAM, J. H. Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. **New Phytologist**, Chichester, v. 220, p 1092-1107, 2018.

SAEED, K. S.; AHMED, S. A.; HASSAN, I. A.; AND AHMED, P. H. Effect of bio-fertilizer and chemical fertilizer on growth and yield in cucumber (*Cucumis sativus* L.) in green house condition. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental**, Dubai, v. 15, p. 353-358, 2015.

SAJEENA, A.; NAIR, D. S.; SREEPAVAN, K. Non-pathogenic *Fusarium oxysporum* as a biocontrol agent. **Indian Phytopathology**, Heidelberg, v. 73, n. 2, p. 177-183, 2020.

SAMARAKOON, M. C.; LUMYONG, S.; MANAWASINGHE, I. S.; SUWANNA-RACH, N.; CHEEWANGKOON, R. Addition of five novel fungal flora to the Xylariomycetidae (Sordariomycetes, Ascomycota) in Northern Thailand. **Journal of Fungi**, Basel, v. 9, n. 11, 1065, 2023.

SANTIS-SICA, P.; SHIRATA, E. S.; RIOS, F. A.; BRANDÃO FILHO, J. U. T.; ESTRADA, K. R. F. S.; OLIVEIRA, R. S. Impact of N-fixing bacterium *Nitrospirillum amazonense* on quality and quantitative parameters of sugarcane under field condition. **Australian Journal of Crop Science**, Lismore, v. 14, p. 1870-1875, 2020.

SARANRAJ, P.; SIVASAKTHIVELAN, P.; AL-TAWAHA, A. R. M.; SUDHA, A.; AL-TAWAHA, A. R.; SIRAJUDDIN, S. N. Diversity and evolution of *Bradyrhizobium* communities relating to Soybean cultivation: A review. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, Bristol, v. 788, n. 1, p. 012208, 2021.

SCHAEFER, D. A.; GUI, H.; MORTIMER, P. E.; XU, J. Arbuscular Mycorrhiza and Sustainable Agriculture. **Circular Agricultural Systems**, Fayetteville, v. 1, n. 6, 2021.

- SCHALAMUK, S.; CABELLO, M. Arbuscular mycorrhizal fungal propagules from tillage and no-tillage systems: possible effects on Glomeromycota diversity. **Mycologia**, Heidelberg, v. 102, n. 2, p. 261-268, 2010.
- SCHULTZ, B. Contribution of water management and flood protection to food security and sustainable development of coastal and deltaic areas. **Irrigation and Drainage**, Oxford, v. 67, n. 1, p. 123-135, 2018.
- SCHWAB, S.; TERRA, L. A.; BALDANI, J. I. Genomic characterization of *Nitrospirillum amazonense* strain CBAmC, a nitrogen-fixing bacterium isolated from surface-sterilized sugarcane stems. **Molecular Genetics and Genomics**, Heidelberg, v. 293, p. 997-1016, 2018.
- SHAMSELDIN, A.; VELÁZQUEZ, E. The promiscuity of *Phaseolus vulgaris* L.(common bean) for nodulation with rhizobia: a review. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 36, p. 63, 2020.
- SHANG, Q. J.; HYDE, K. D.; PHOOKAMSAK, R.; DOILOM, M.; BHAT, D. J.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S.; PROMPUTTHA, I. *Diatrypella tectonae* and *Pero-neutypa mackenziei* spp. nov.(Diatrypaceae) from northern Thailand. **Mycological progress**, Heidelberg, v. 16, p. 463-476, 2017.
- SHETEIWY, M. S.; ELGAWAD, H. A.; XIONG, Y. C.; MACOVEI, A.; BRESTIC, M.; SKALICKY, M.; SHAGHALEH, H.; HAMOUD, Y. A.; EL-SAWAH, A. M. Inoculation with *Bacillus amyloliquefaciens* and mycorrhiza confers tolerance to drought stress and improve seed yield and quality of soybean plant. **Physiologia Plantarum**, Hoboken, v. 172, n. 4, p. 2153-2169, 2021.
- SHIN D. S.; PARK M. S.; JUNG S.; LEE M. S.; LEE K. H.; BAE K. S.; KIM S. B. Plant growth-promoting potential of endophytic bacteria isolated from roots of coastal sand dune plants. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 17, p. 1361-1368, 2007.
- SHINJO, R.; TANAKA, A.; SUGIURA, D.; SUZUKI, T.; UESAKA, K.; TAKEBAYASHI, Y.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H.; TAKEMOTO, D.; KONDO, M. Comprehensive analysis of the mechanisms underlying enhanced growth and root N acquisition in rice by the endophytic diazotroph, *Burkholderia vietnamiensis* RS1. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 450, p. 537-555, 2020.
- SHINJO, R.; UESAKA, K.; IHARA, K.; SAKAZAKI, S.; YANO, K.; KONDO, M.; TANAKA, A. Draft genome sequence of *Burkholderia vietnamiensis* strain RS1, a nitrogen-fixing endophyte isolated from sweet potato. **Microbiology Resource Announcements**, Washington, v. 7, n. 3, 00820-18, 2018.
- SICOLI, G.; PASSALACQUA, N. G.; GIUSEPPE, A. B.; PALERMO, A. M.; PELLEGRINO, G. A new species of *Psathyrella* (Psathyrellaceae, Agaricales) from Italy. **MycoKeys**, Sofia, v. 52, p. 89-102, 2019.

SILVA, L. L.; VELOSO, T. G.; MANHÃES, J. H.; DA SILVA, C. C.; QUEIROZ, M. V. The plant organs and rhizosphere determine the common bean mycobiome. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 51, p. 765-772, 2020.

SINGH, A. V.; CHANDRA, R.; GOEL, R. Phosphate solubilization by *Chryseobacterium* sp. and their combined effect with N and P fertilizers on plant growth promotion. **Archives of Agronomy and Soil Science**, Abingdon, v. 59, n. 5, p. 641-651, 2013.

SINGH, K. P.; JAISWAL, R. K.; KUMAR, N.; KUMAR, D. Nematophagous fungi associated with root galls of rice caused by *Meloidogyne graminicola* and its control by *Arthrobotrys dactyloides* and *Dactylaria brochopaga*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 155, n. 4, p. 193-197, 2007.

SINGH, M.; MANICKAVASAGAN, A.; SHOBANA, S.; MOHAND, V. Glycemic index of pulses and pulse-based products: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, New York, v. 61, p. 1567-1588, 2021.

SOROKIN, D. Y.; RAINEY, F. A.; WEBB, R. I.; FUERST, J. A. *Sulfitobacter*. In: WHITMAN, W. B.; AHARAL, D. R.; CHRISTENSEN, H.; CHUVOCHINA, M.; DEDYSH, S.; GASPARICH, G. E.; HUGENHOTLZ, P.; REYSENBACH, A.-L.; ROMALDE, J. L.; TRUJILLO, M. E.; VANDAMME, P.; VENTER, S. N.; XU, X.-W. **Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria**. Nova Jersey: Wiley, 2015.

SOSA-HERNÁNDEZ, M. A.; ROY, J.; HEMPEL, S.; KAUTZ, T.; KÖPKE, U.; UKSA, M.; SCHLOTTER, M.; CARUSO, T.; RILLIG, M. C. Subsoil arbuscular mycorrhizal fungal communities in arable soil differ from those in topsoil. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 117, p. 83-86, 2018.

SPRING, S.; ROSENZWEIG, F. The genera *Desulfitobacterium* and *Desulfosporosinus*: taxonomy. **The prokaryotes**, [s. l.], v. 4, p. 771-786, 2006.

STEDUTO, P.; SCHULTZ, B.; UNVER, O.; OTA, S.; VALLEE, D.; KULKARNI, S.; GARCIA, M. D. J. Food security by optimal use of water. Synthesis of the 6th and 7th World Water Forums and developments since then. **Irrigation and Drainage**, Oxford, v. 67, n. 3, p. 327-344, 2018.

SULTANA, S.; ALAM, S.; KARIM, M. M. Screening of siderophore-producing salt-tolerant rhizobacteria suitable for supporting plant growth in saline soils with iron limitation. **Journal of Agriculture and Food Research**, Amsterdam, v. 4, 100150, 2021.

SUWANNARACH, N.; KUMLA, J.; LUMYONG, S. *Spissiomycetes endophytica* (Dothideomycetes, Ascomycota), a new endophytic fungus from Thailand. **Phyto-taxa**, Auckland, v. 33, p. 219-227, 2018.

SUWANNARACH, N.; KUMLA, J.; WATANABE, B.; MATSUI, K.; LUMYONG, S. Characterization of melanin and optimal conditions for pigment production by an endophytic fungus, *Spissiomycetes endophytica* SDBR-CMU319. **PLoS One**, San Francisco, v. 14, n. 9, e0222187, 2019.

TANG, S.Y.; HARA, S.; MELLING, L.; GOH, K. J.; HASHIDOKO, Y. *Burkholderia vietnamiensis* isolated from root tissues of Nipa palm (*Nypa fruticans*) in Sarawak, Malaysia, proved to be its major endophytic nitrogen-fixing bacterium. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Oxford, v. 74, p. 1972-1975, 2010.

TEDONE, L.; RUTA, C.; DE CILLIS, F.; MASTRO, G. Effects of *Septoglomus viscosum* inoculation on biomass yield and steviol glycoside concentration of some *Stevia rebaudiana* chemotypes. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 262, 109026, 2020.

TEMPRANO-VERA, F.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, D. N.; ACOSTA-JURADO, S.; PERRET, X.; FOSSOU, R. K.; NAVARRO-GÓMEZ, P.; ZHEN, T.; YU, D.; NA, Q.; BUENDÍA-CLAVERÍA, A. M.; MORENO, J.; LÓPEZ-BAENA, F. J.; RUIZ-SAINZ, J. E.; VINARDELL, J. M. *Sinorhizobium fredii* strains HH103 and NGR234 form nitrogen fixing nodules with diverse wild soybeans (*Glycine soja*) from central China but are ineffective on northern China accessions. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 9, 2843, 2018.

TESFAYE, K.; ZAIDI, P.; GBEGBELEGBE, S.; BOEBER, C.; RAHUT, D. B.; GET-ANEH, F.; SEETHARAM, K.; ERENSTEIN, O.; STIRLING, C. Climate change impacts and potential benefits of heat-tolerant maize in South Asia. **Theoretical and Applied Climatology**, Wien, v. 130, p. 959-970, 2017.

THAKSHILA, S. A.; BHUNJUN, C. S.; SAMARAKOON, M. C.; RATHNAYAKA, A. R.; GAJANAYAKE, A. J. Morpho-molecular analyses reveal a novel species, *Xenanthostomella thailandica* (Gyrothricaceae, Xylariales), from northern Thailand. **New Zealand Journal of Botany**, Melbourne, v. 62, n. 2-3, p. 336-366, 2024.

TIEPO, A. N.; HERTEL, M. F.; ROCHA, S. S.; CALZAVARA, A. K.; OLIVEIRA, A. L. M.; PIMENTA, J. A.; OLIVEIRA, H. C.; BIANCHINI, E.; STOLF-MOREIRA, R. Enhanced drought tolerance in seedlings of neotropical tree species inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Plant Physiology and Biochemistry**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 130, p. 277-288, 2018.

TOUROVA, T. P.; SPIRIDONOVA, E. M.; SLOBODOVA, N. V.; BOULYGINA, E. S.; KEPPE, O. I.; KUZNETSOV, B. B.; IVANOVSKY, R. N. Phylogeny of anoxygenic filamentous phototrophic bacteria of the family Oscillochloridaceae as inferred from comparative analyses of the *rrs*, *cbbL*, and *nifH* genes. **Microbiology**, London, v. 75, p. 192-200, 2006.

TRAN, N. T.; MILES, A. K.; DIETZGEN, R. G.; DEWDNEY, M. M.; ZHANG, K.; ROLLINS, J. A.; DRENT, A. Sexual reproduction in the citrus black spot pathogen, *Phyllosticta citricarpa*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 107, n. 6, p. 732-739, 2017.

TRAN-CONG, N. M.; MÁNDI, A.; KURTÁN, T.; MÜLLER, W. E.; KALSCHAUER, R.; LIN, W.; TRAN-CONGA, N. M.; MÁNDI, A.; KURTÁN, T.; MÜLLER, W. E. G.; KALSCHAUER, R.; LIN, W.; LIU, Z.; PROKSCH, P. Induction of cryptic metabolites of the endophytic fungus *Trichocladium* sp. through OSMAC and co-cultivation. **RSC advances**, Cambridge, v. 9, n. 47, p. 27279-27288, 2019.

TRÂN-VAN, V.; BERGE, O.; KÊ, S. N.; BALANDREAU, J.; HEULIN, T. Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility sulphate acid soils of Vietnam. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 218, p. 273-284, 2000.

TRESEDER, K. K.; ALLEN, E. B.; EGERTON-WARBURTON, L. M.; HART, M. M.; KLIRONOMOS, J. N.; MAHERALI, H.; TEDERSOO, L. Arbuscular mycorrhizal fungi as mediators of ecosystem responses to nitrogen deposition: A trait-based predictive framework. **Journal of Ecology**, Chichester, v. 106, n. 2, p. 480-489, 2018.

TSOTETSI, T.; NEPHALI, L.; MALEBE, M.; TUGIZIMANA, F. Bacillus for plant growth promotion and stress resilience: what have we learned? **Plants**, Basel, v. 11, n. 19, 2482, 2022.

UNITED NATIONS, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2019) **World Population Prospects, Medium Prognosis**. The 2019 Revision. New York, USA.

VÁZQUEZ, M. M.; CÉSAR, S.; AZCÓN, R.; BAREA, J. M. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 261-272, 2000.

VIAENE, T.; LANGENDRIES, S.; BEIRINCKX, S.; MAES, M.; GOORMACHTIG, S. *Streptomyces* as a plant's best friend? **FEMS microbiology ecology**, Oxford, v. 92, n. 8, fiw119, 2016.

VIEIRA, N. D.; MOREIRA, A.; MORAES, L. A.; CEREZINI, P.; SOARES FILHO, C. V.; CARDOSO, B. M. Response of dry bean to nitrogen fertilization and inoculation with *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasiliensis*. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 52, n. 7, p. 686-694, 2021.

VITOUSEK, P. M.; NAYLOR, R.; CREWS, T.; DAVID, M. B.; DRINKWATER, L. E.; HOLLAND, E.; JOHNES, P. J.; KATZENBERGER, J.; MARTINELLI, L. A.; MATSON, P. A.; NZIGUHEBA, G.; OJIMA, D.; PALM, C. A.; ROBERTSON, G. P.; SANCHEZ, P. A.; TOWNSEND, A. R.; ZHANG, F. S. Nutrient imbalances in agricultural development. **Science**, [s. l.], v. 324, 1519-1520, 2009.

WANG, Q. M.; YURKOV, A. M.; GÖKER, M.; LUMBSCH, H. T.; LEAVITT, S. D.; GROENEWALD, M.; THEELEN, B.; LIU, X.-Z.; BOEKHOUT, T.; BAI, F. Y. Phylogenetic classification of yeasts and related taxa within *Pucciniomycotina*. **Studies in mycology**, Utrecht, v. 81, n. 1, p. 149-189, 2015.

WANG, Z.; CHEN, Z.; LEITE, M. F.; XU, Z.; LIN, Q.; KOWALCHUK, G. A.; FU, X.; KURAMAE, E. E. Effects of probiotic consortia on plant metabolites are associated with soil indigenous microbiota and fertilization regimes. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 185, 115138, 2022.

WIKKEE, S.; LOMBARD, L.; CROUS, P. W.; NAKASHIMA, C.; MOTOHASHI, K.; CHUKEATIROTE, E.; ALIAS, S. A.; MCKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D. *Phyllosticta capitalensis*, a widespread endophyte of plants. **Fungal Diversity**, Dordrecht, v. 60, p. 91-105, 2013.

WILKES, T. I.; WARNER, D. J.; EDMONDS-BROWN, V.; DAVIES, K. G. Species-specific interactions of *Bacillus inocula* and arbuscular mycorrhizal fungi symbiosis with Winter Wheat. **Microorganisms**, Basel, v. 8, n. 11, 1795, 2020.

WU, Y.; LI, H.; LI, Y. Biomineralization induced by cells of *Sporosarcina pasteurii*: Mechanisms, applications and challenges. **Microorganisms**, Basel, v. 9, n. 11, 2396, 2021.

WURZBURGER, N.; BELLENGER, J. P.; KRAEPIEL, A. M. L.; HEDIN, L. O. Molybdenum and phosphorus interact to constrain asymbiotic nitrogen fixation in tropical forests. **PLoS One**, San Francisco, v. 7, e33710, 2012.

WUTKE, E. B.; CHIORATO, A. F.; ESTEVES, J. A. F.; CARBONELL, S. A. M.; AMBROSANO, E. J.; LEMOS, L. B.; SORATTO, R. P.; ARF, O.; CANTARELLA, H. Feijão. In: CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; MATOS JUNIOR, D.; BOARETTO, R.M.; RAIJ, B. van (ed.). **Boletim 100**: Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 3. ed. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas/Fundação IAC, 2022. p. 246-248.

XIE, Z.; YU, Z.; LI, Y.; WANG, G.; TANG, C.; MATHESIUS, U.; LIU, X.; LIU, J.; LIU, J.; HERBERT, S. J.; WU, J.; JIN, J. Linking rhizospheric diazotrophs to the stimulation of soybean N₂ fixation in a Mollisol amended with maize straw. **Plant Soil**, Prague, v. 463, p. 279-289, 2021.

YAN, Y.; ZHANG, L.; YU, M.; WANG, J.; TANG, H.; YANG, Z.; WAN, P. The genome of *Bacillus aryabhatai* T61 reveals its adaptation to Tibetan Plateau environment. **Genes & Genomics**, Seoul, v. 38, p. 293-301, 2016.

YANG, J.; LAN, L.; JIN, Y.; YU, N.; WANG, D.; WANG, E. Mechanisms underlying legume–rhizobium symbioses. **Journal of Integrative Plant Biology**, Richmond, v. 64, n. 2, p. 244-267, 2022.

YOUSSEF, S. M.; RIAD, G. S.; ELHADY, S. A. A. Effect of phosphorus sources and arbuscular mycorrhizal inoculation on growth and productivity of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Gesunde Pflanzen**, Heidelberg, v. 69, n. 3, p. 139-148, 2017.

ZHANG, C.; WANG, M. Y.; KHAN, N.; TAN, L. L.; YANG, S. Potentials, utilization, and bioengineering of plant growth-promoting *Methylobacterium* for sustainable agriculture. **Sustainability**, New Rochelle, v. 13, n. 7, 3941, 2021.

ZHANG, H.; SHI, Y.; DONG, Y.; LAPEN, D. R.; LIU, J.; CHEN, W. Subsoiling and conversion to conservation tillage enriched nitrogen cycling bacterial communities in sandy soils under long-term maize monoculture. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 215, 105197, 2022.

ZHANG, S.; LEHMANN, A.; ZHENG, W.; YOU, Z.; RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain yields: A meta-analysis. **New Phytologist**, Chichester, v. 222, n. 1, p. 543-555, 2019.

ZHENG, C.; JI, B.; ZHANG, J.; ZHANG, F.; BEVER, J. D. Shading decreases plant carbon preferential allocation towards the most beneficial mycorrhizal mutualist. **New Phytologist**, Chichester, v. 205, n. 1, p. 361-368, 2015.

MATERIAL SUPLEMENTAR

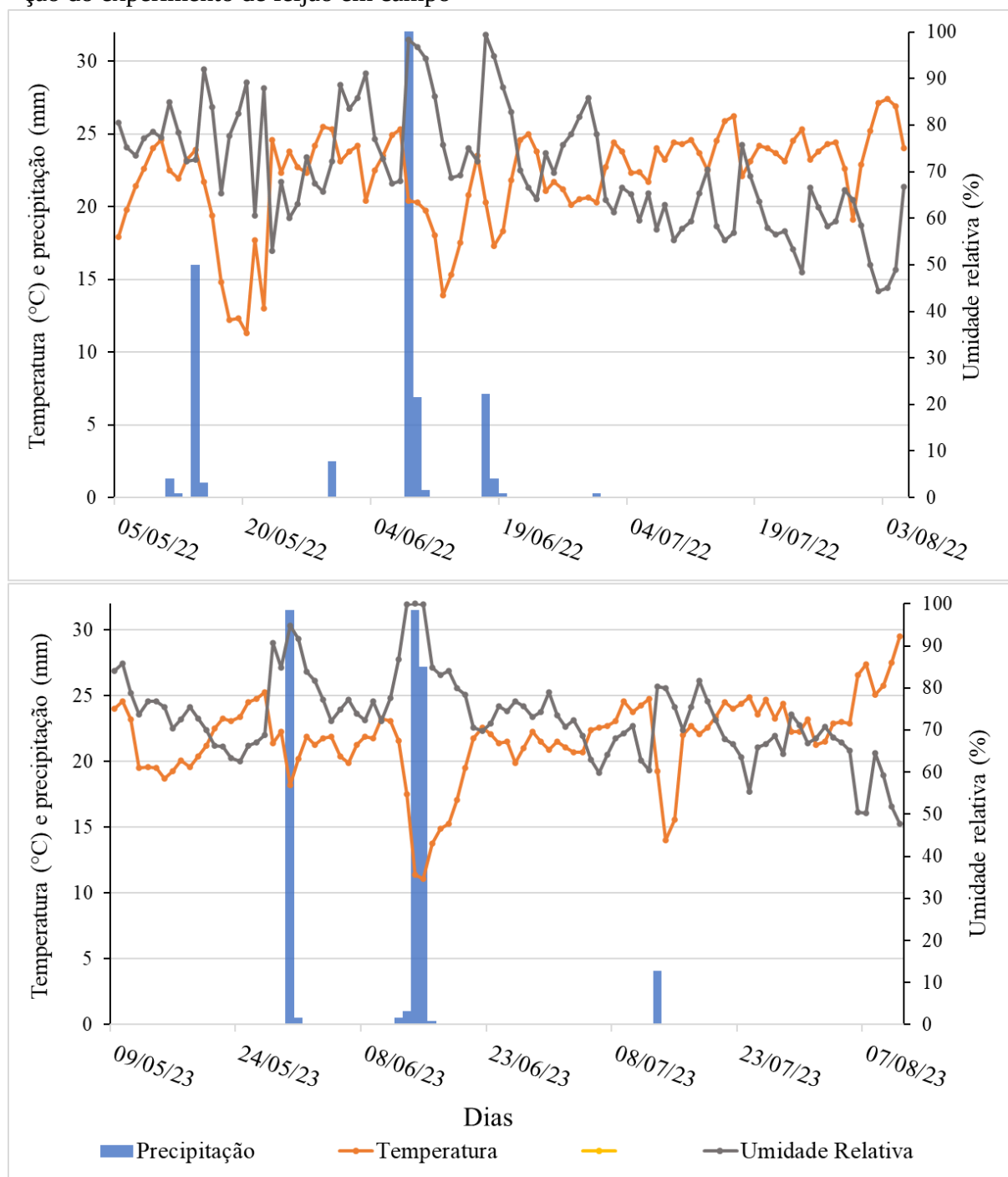
Tabela S4.1 Link para consulta das buscas avançadas na Web of Science, setembro de 2024

BUSCA AVANÇADA - WEB OF SCIENCE		
BUSCA	LINK	RESULTADOS
inoculation of arbuscular mycorrhizal fungus and bactéria and <i>Phaseolus vulgaris</i> field	https://www.webof-science.com/wos/woscc/summary/b6b653e1-c7e9-4bac-98f9-78af53ac22e9-013607fba7/relevance/1	5

Nota: Todas as buscas contaram com o filtro 'Refined By: Document Types: Article'.

Fonte: Web of Science.

Figura S4.1 Dados de temperatura, precipitação e umidade relativa do ar durante condução do experimento de feijão em campo



Fonte: Unesp (2025).

Tabela S4.2 Porcentagem de retenção de grãos de feijão em peneiras 13, 12, 11, 10 e fundo (P13, P12, P11, P10, PFUNDO, respectivamente) após inoculação com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglossus clarum*

1 ANAVA	P13	P12	P11	P10	PFUNDO
	p-valor				
BPCP	0,231	0,661	0,063	0,773	0,028
FMA	0,348	0,434	0,076	0,623	0,316
BPCP x FMA	0,657	0,857	0,723	0,931	0,489
Anos (A)	<0,001	0,333	<0,001	0,027	0,203
A x BPCP	0,488	0,715	0,192	0,802	0,831
A x FMA	0,572	0,762	0,859	0,630	0,350
A x BPCP x FMA	0,933	0,819	0,848	0,721	0,687
2 Médias	P13	P12	P11	P10	PFUNDO
BPCP	%				
Testemunha	12,27	40,07	33,27	11,65	2,74 b
<i>Azospirillum brasilense</i>	12,94	41,45	32,09	10,96	2,56 b
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	10,42	38,70	35,62	12,38	2,88 b
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	12,6	39,04	32,08	12,74	3,55 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	12,31	40,95	31,01	12,42	3,32 a
<i>Bacillus aryabhattai</i>	12,23	38,59	32,92	12,25	4,01 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	12,27	38,9	32,76	12,47	3,59 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	9,40	37,70	34,98	14,09	3,82 a
FMA (<i>Rhizoglossus clarum</i>)					
Ausente	12,15	39,85	32,41	12,16	3,43
Presente	11,46	39,00	33,77	12,58	3,19
Média geral	11,81	39,42	33,09	12,37	3,31
CV1(%)	35,07	15,35	12,83	38,25	40,09
CV2(%)	46,31	15,38	14,19	39,69	55,87

Nota: CV1 e CV2 (%): coeficientes de variação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S4.3 Desdobramento da interação entre a inoculação com *Rhizoglossus clarum* (FMA) e os anos de experimento para teor de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão (g kg⁻¹)

FMA Inoculado/Ano	2022	2023
FMA Ausente	39,70 a	40,32 a
FMA Presente	40,53 a	38,86 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela S4.4 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento (BPCP), *Rhizoglomus clarum* (FMA) e os anos de experimento sobre o teor de cálcio na parte aérea de plantas de feijão (g kg^{-1})

ANO	2022		2023	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	16,88 a	17,23 a	14,25 a	16,00 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	14,77 a	16,26 a	14,91 a	14,62 a
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	15,78 a	16,16 a	15,02 a	14,26 a
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	18,15 a	16,17 a	14,49 a	16,80 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	16,03 a	17,95 a	15,07 a	14,21 a
<i>B. aryabhattai</i>	17,05 a	16,36 a	14,96 a	15,14 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	16,55 a	15,36 a	15,79 a	14,45 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	17,30 a	15,41 a	13,24 a	14,60 a

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas para as colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

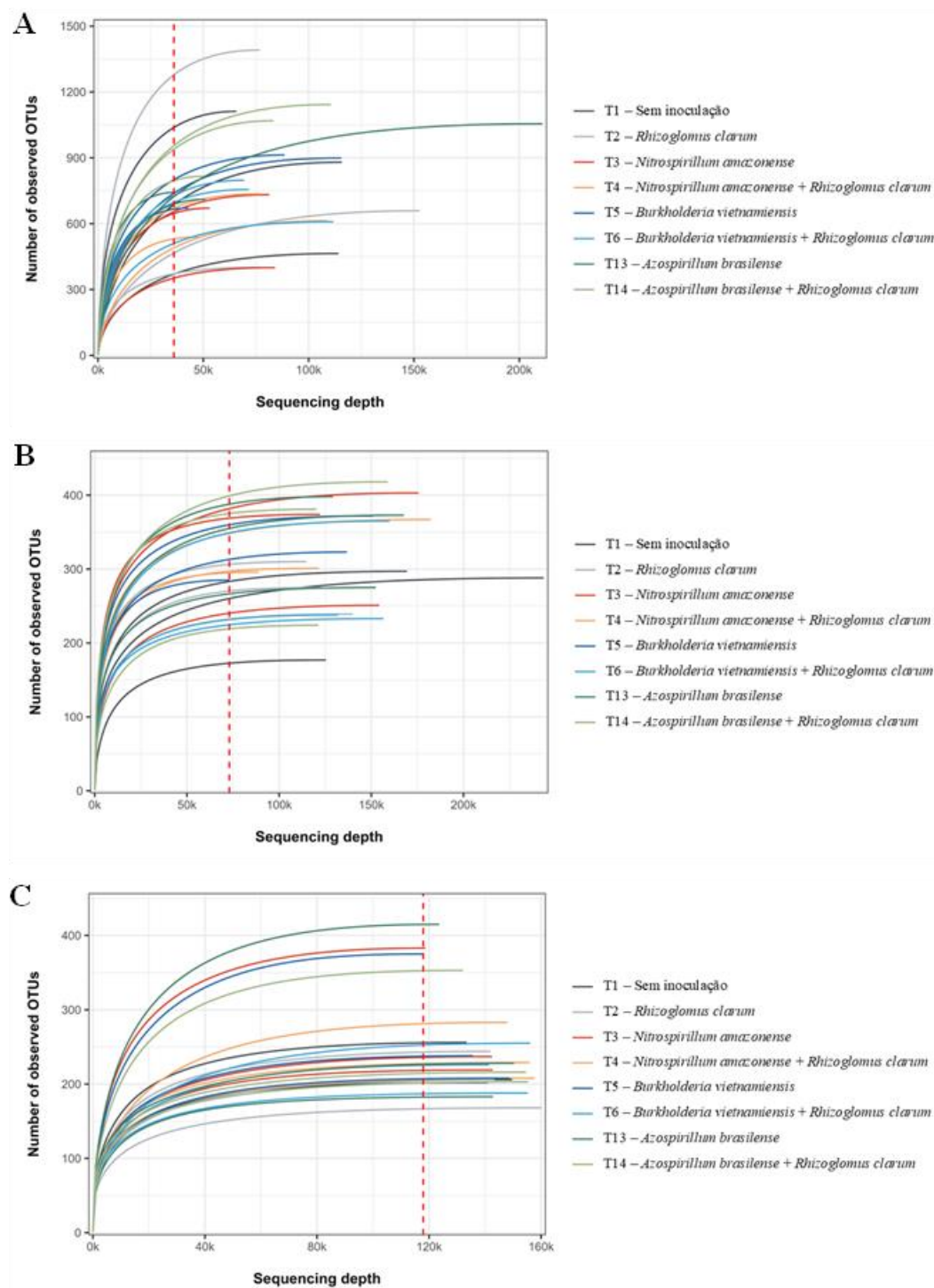
Tabela S4.5 Desdobramento da interação entre a inoculação com *Rhizoglomus clarum* (FMA) e os anos de experimento para teor de ferro nos grãos de feijão (mg kg^{-1})

FMA Inoculado/Ano	2022	2023
FMA Ausente	243,65 a	111,34 a
FMA Presente	274,94 a	85,56 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F.

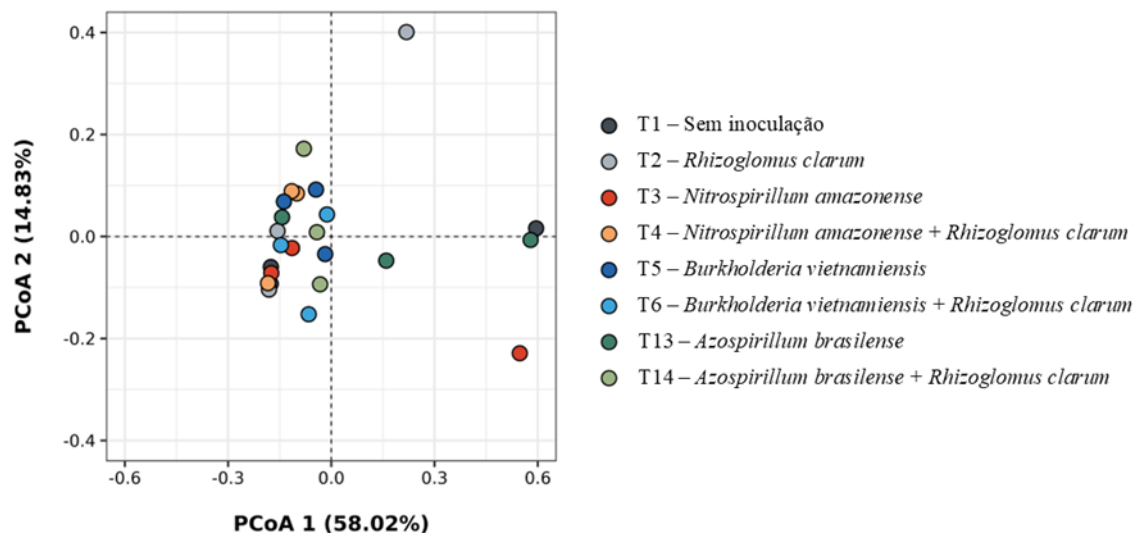
Fonte: Dados do próprio autor.

Figura S4.2 Curva de rarefação para avaliação do esforço amostral dos sequenciamentos 16S, ITS1 e 28S (A, B e C, respectivamente)



Fonte: Dados do próprio autor.

Figura S4.3 Análise de coordenadas principais realizada com distâncias de Bray-Curtis de comunidades bacterianas em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossus clarum* (FMA)



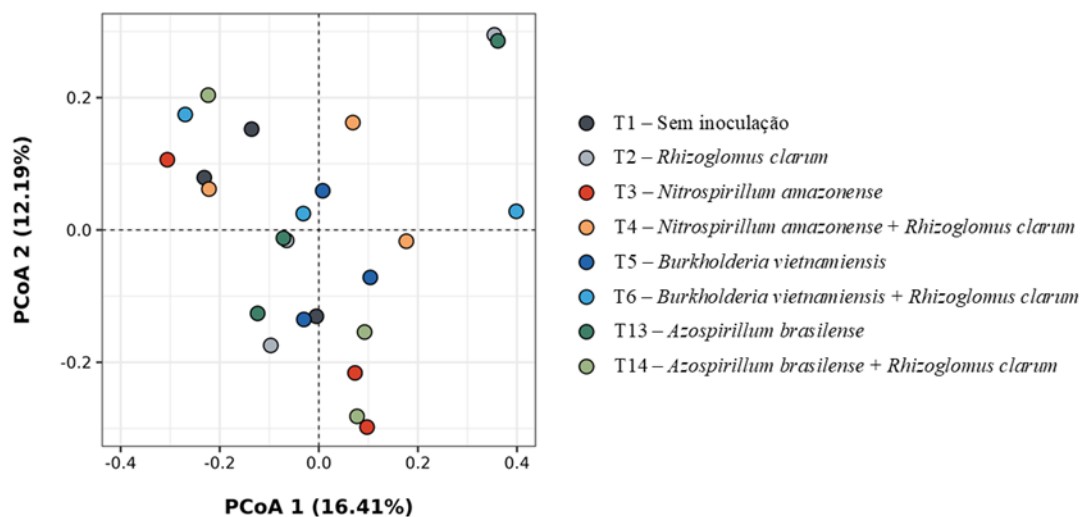
PERMANOVA (BAC): $F = 0,456$; $R^2 = 0,067$; p-valor = 0,936

PERMANOVA (FMA): $F = 1,472$; $R^2 = 0,073$; p-valor = 0,215

PERMANOVA (BxF): $F = 0,484$; $R^2 = 0,072$; p-valor = 0,917

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura S4.4 Análise de coordenadas principais realizada com distâncias de Bray-Curtis de comunidades fúngicas em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossus clarum* (FMA)



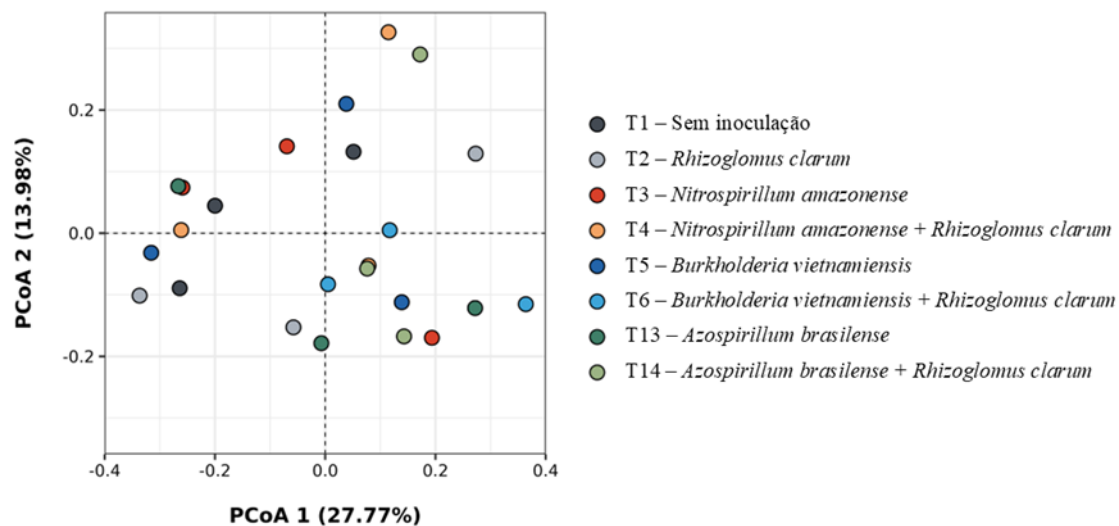
PERMANOVA (BAC): $F = 0,778$; $R^2 = 0,106$; p-valor = 0,937

PERMANOVA (FMA): $F = 0,844$; $R^2 = 0,038$; p-valor = 0,699

PERMANOVA (BxF): $F = 0,940$; $R^2 = 0,128$; p-valor = 0,618

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura S4.5 Análise de coordenadas principais realizada com distâncias de Bray-Curtis de comunidades de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de feijão após inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossus clarum* (FMA)



PERMANOVA (BPCPAC): $F = 0,671$; $R^2 = 0,097$; p-valor = 0,917

PERMANOVA (FMA): $F = 0,984$; $R^2 = 0,047$; p-valor = 0,441

PERMANOVA (BxF): $F = 0,573$; $R^2 = 0,083$; p-valor = 0,974

Fonte: Dados do próprio autor.

5 INTERAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO E *Rhizogloium clarum* NA QUALIDADE BIOLÓGICA E FRAÇÕES DE FÓSFORO DO SOLO

RESUMO

A base da agricultura é o solo, cujo conceito de qualidade abrange seus aspectos físicos, químicos e biológicos. A atividade enzimática é indicador crucial da ciclagem de nutrientes e, consequentemente, da qualidade dos solos. O fósforo (P) é essencial para as plantas, embora seja frequentemente imobilizado nos solos, tornando-se indisponível para absorção radicular. Apesar da inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) melhorarem a qualidade do solo, incluindo a disponibilidade de P, poucos estudos tratam dos efeitos combinados de BPCP e FMA em condições de campo. Este trabalho buscou verificar os efeitos destas inoculações na atividade enzimática, respiração basal do solo, dinâmica do carbono (C) e nas frações de P do solo. Isso foi feito por meio de um experimento de campo em área sob sistema plantio direto em fase inicial de implantação, em delineamento de blocos casualizados e esquema fatorial 8 x 2, com três repetições e subdivisão no tempo (dois momentos de coleta do solo). Os tratamentos consistiram no fator BPCP (testemunha não inoculada, *Azospirillum brasilense*, *Azomonas macrocytogenes*, *Azotobacter beijerinckii*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus aryabhattai*, *Burkholderia vietnamiensis* e *Nitrospirillum amazonense*) e no fator FMA (ausência ou presença de *Rhizogloium clarum*). As inoculações foram feitas em quatro cultivos sucessivos: milho primeira safra em 2021/22, feijão de inverno em 2022, retornando o milho em 2022/23 e o feijão em 2023, sendo que o solo foi coletado após cada colheita da cultura do feijão. A inoculação com *R. clarum* promoveu maior atividade da desidrogenase do solo e a bactéria *A. macrocytogenes* inoculada resultou em maior carbono da biomassa microbiana. *A. macrocytogenes* e *Azot. beijerinckii* reduziram a atividade da fosfatase ácida do solo e a fração de P lábil. Ao serem combinadas com o FMA, esses efeitos de redução foram neutralizados. Concluindo, as inoculações mostraram impactos limitados nos parâmetros biológicos e na disponibilidade de P, possivelmente devido ao uso de fertilizantes minerais e à maior absorção de P pelas raízes. Estudos adicionais são necessários para melhor compreensão das interações entre microrganismos e seu impacto em diferentes solos agrícolas.

Palavras-chave: fosfatase ácida; cultivos inoculados; *Azospirillum brasilense*; *Bacillus amyloliquefaciens*; fósforo lábil; fungo micorrízico arbuscular.

5.1 INTRODUÇÃO

A qualidade dos solos é um conceito que engloba a física, química e biologia dos mesmos, considerando sua capacidade de funcionar dentro de limites do ecossistema, unindo produtividade biológica, qualidade ambiental e sanidade vegetal e animal (Doran; Parkin, 1994; Karlen *et al.*, 1997). Considerar os aspectos biológicos permite explicar diferenças no desempenho das culturas em solos que são física e quimicamente similares, além de demonstrar rapidamente alterações causadas pelo manejo agrícola (Dick *et al.*, 1996; Mendes *et al.*, 2017; Peixoto *et al.*, 2010; Franchini *et al.*, 2007). Nesse contexto, a atividade enzimática do solo (por exemplo, arilsulfatase, beta-glicosidase, fosfatase e desidrogenase) é um indicador crucial da saúde do solo, refletindo sua capacidade de catalisar reações bioquímicas essenciais para a ciclagem de nutrientes (Neemisha *et al.*, 2022).

Enquanto a arilsulfatase está relacionada com a mineralização de enxofre (S) no solo, ao catalisar a hidrólise de ésteres de sulfato orgânico em sulfato-S (Tabatabai; Bremner, 1970), a beta-glicosidase participa da última etapa da degradação da celulose, catalisando a hidrólise de glicosídeos e convertendo-os em glicose (Martinez; Tabatabai, 1997; Stott *et al.*, 2010). A fosfatase representa as enzimas que mineralizam fosfatos orgânicos do solo, hidrolisando vários ésteres de P e liberando P inorgânico solúvel, tornando-o novamente lábil (Burns; Dick, 2002; Schmidt e Laskowski, 1961; Acosta-Martínez *et al.*, 2011). A desidrogenase, por ser uma enzima relacionada à oxidação biológica da matéria orgânica e ocorrer apenas dentro das células vivas, é excelente indicadora da atividade biológica do solo (Kumar *et al.*, 2013; Wolinskà; Stępniewska, 2012).

A atividade enzimática do solo é influenciada por diversos fatores, como pH, umidade, aeração, matéria orgânica, temperatura, teor de P disponível, quantidade de N e P aplicadas como fertilizante, produtos fitossanitários, espécie vegetal e culturas de cobertura (Chen *et al.*, 2019; Adetunji *et al.*, 2017; Margalef *et al.*, 2017; Choudhary *et al.*, 2018; Dick *et al.*, 1988; Eichler-Löbermann *et al.*, 2021). Assim, fica claro que a biologia do solo, com destaque para sua atividade enzimática é altamente sensível ao manejo realizado nas áreas agrícolas (Li *et al.*, 2018; Ahamadou; Huang, 2013), incluindo a prática de inoculação de microrganismos.

Além disso, o fósforo (P) é um elemento essencial para as plantas (Taiz *et al.*, 2021), mas cuja maior parte encontra-se imobilizada no solo e inacessível para as plantas. Enquanto apenas o fosfato inorgânico em forma solúvel (H_2PO_4^- ou HPO_4^{2-}) é acessível

para elas, o P ocorre majoritariamente associado a compostos orgânicos e inorgânicos no solo (Menezes-Blackburn *et al.*, 2018; Pang *et al.*, 2024; Hagen *et al.*, 1955). Assim, quantificar as frações lábil, moderadamente lábil e não lábil de P no solo pela análise de fracionamento do P, permite maior compreensão da disponibilidade deste elemento e dos efeitos que práticas de manejo têm sobre a dinâmica deste nutriente nos solos (Gatiboni; Condrón, 2021; Condrón; Newman, 2011).

A inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é uma ferramenta promissora para incrementar a produtividade agrícola, melhorar a biologia dos solos e potencialmente melhorar o aproveitamento de P e N (Sammauria *et al.*, 2020; Canfora *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2022; Vijaysri *et al.*, 2024). Esses microrganismos possuem a habilidade de mineralização e solubilização de fosfatos, inclusive pela síntese de fosfatases, que mineralizam moléculas orgânicas do solo contendo P liberando grupos ortofosfato (Olanrewaju *et al.*, 2017; Glick, 2012; Rodríguez *et al.* 2006). Os FMA, por sua vez, colonizam as raízes das plantas e estendem suas hifas para além delas, explorando maior volume de solo, absorvendo e fornecendo nutrientes e água para as plantas, com destaque para o P, também secretando fosfatases (Smith; Read, 2010; Thirkell *et al.*, 2017; Koide; Kabir, 2000). Além disso, têm efeitos benéficos para o solo, pois favorecem a agregação do solo, a retenção de água no solo, em parte graças à glomalina e à rede de micélios que se estende para além das raízes e abriga comunidades de microrganismos benéficos envolvidos inclusive na solubilização de fosfato (Wang *et al.*, 2022a; Taktek *et al.*, 2015; Leifheit *et al.*, 2014; Holátko *et al.*, 2021)

Embora os efeitos de inoculações com BPCP e FMA sejam muito estudados em contextos controlados, os efeitos combinados de BPCP e FMA no solo são pouco conhecidos, especialmente em condições de campo. Assim, existem poucos estudos sobre como estas combinações influenciam os aspectos biológicos do solo e a ciclagem de nutrientes, especialmente o P no solo em ambientes agrícolas.

Devido à relevância das inoculações para uma agricultura que busca cada vez mais a conservação da saúde do solo, este estudo busca investigar os efeitos das inoculações de BPCP e sua combinação com FMA, na atividade enzimática, respiração basal do solo e dinâmica do carbono (C) e P do solo. A compreensão dessas interações poderá contribuir para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de manejo do solo, promovendo a produtividade agrícola de forma sustentável e oferecendo insights de combinações sinérgicas promissoras para a saúde do solo.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Área experimental

O presente trabalho foi desenvolvido ao longo dos quatro cultivos agrícolas descritos nos capítulos 2 e 3, entre dezembro de 2021 até agosto de 2023 em Selvíria/MS, Brasil. A descrição da área experimental quanto ao solo, fertilidade e clima encontra-se no capítulo 2.

5.2.2 Delineamento experimental e material biológico

O delineamento de blocos casualizados foi utilizado para este trabalho, associado a esquema fatorial 8 x 2, subdivisão no tempo e três repetições (de acordo com capítulos 2 e 3). Resumidamente, os dois fatores considerados foram: a inoculação de BPCP: *Azospirillum brasilense* (Ab-V5, cepa 2083), *Azomonas macrocytogenes* (BR 10692), *Azotobacter beijerinckii* (BR 10657), *Bacillus amyloliquefaciens* (ATCC 23350), *Bacillus aryabhatai* (CBMAI 1120), *Burkholderia vietnamiensis* (BR 12311), e *Nitrospirillum amazonense* (BR 11142), além de um tratamento testemunha não inoculada com BPCP. As espécies bacterianas utilizadas foram escolhidas com base no resultado descrito no capítulo 1. O segundo fator considerado foi a inoculação com o FMA *Rhizoglossum clarum* (linhagem A5) na dose de 0,5 kg ha⁻¹ de inoculante sólido por cultivo.

As espécies bacterianas utilizadas foram disponibilizadas pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner, pela Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria e pelo Laboratório de Microbiologia do Solo da UNESP – Campus de Jaboticabal. A multiplicação das bactérias para produção do inoculante foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Solo da UNESP – Campus de Jaboticabal de acordo com as metodologias descritas para cada espécie no capítulo 1. Todos os inoculantes apresentavam concentração mínima de 1 x 10⁷ unidades formadoras de colônia (UFC) mL⁻¹. A inoculação com as BPCP foi realizada em três aplicações: inicialmente via sementes e duas pulverizações aéreas após a emergência das plantas, em todos os casos na dose de 500 mL ha⁻¹, tal como descrito nos capítulos anteriores.

O inoculante com o FMA foi produzido pelo Centro de Recursos Biológicos Johanna Döbereiner e possuía 15 esporos por grama. Foi realizada aplicação de solução adesiva de goma arábica (40%) em todos os tratamentos na dose de 300 mL ha⁻¹ para

garantir boa aderência do inoculante sólido às sementes. Conforme indicado nos capítulos anteriores, o tratamento não inoculado com FMA recebeu apenas a solução adesiva de goma arábica.

Tal como descrito nos capítulos 2 e 3, o experimento foi inicialmente implantado em 2021/22 com a cultura do milho, seguido pela cultura do feijão de inverno em 2022. A cultivar de milho utilizada foi o híbrido de milho AG 7098® e a cultivar de feijão carioca utilizada foi IAC 1850. Após a colheita do feijão, foi cultivado o milheto, em seguida o milho na safra 2022/23 e feijão de inverno em 2023. Cada tratamento de BPCP e FMA foi repetido nas mesmas parcelas ao início de cada cultivo de milho e de feijão. Isto foi realizado para verificar a ocorrência de possíveis efeitos cumulativos das inoculações ao longo desses quatro cultivos sucessivos.

Após cada colheita da cultura do feijão (2022 e 2023), foi realizada a coleta de solo da camada de 0,0-0,20 m nas linhas de cultivo, dentro da área útil das parcelas. Cada parcela foi representada por uma amostra composta de 10 amostras simples. Após a coleta, as amostras de solo foram secas à sombra e moídas em equipamento com peneira de 2 mm.

5.2.3 Avaliações

Foram determinadas as atividades das enzimas de solo arilsulfatase, beta-glicosidase, fosfatase ácida e desidrogenase, além do carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração basal do solo (RBS), o número de esporos de FMA por grama de solo e o fracionamento do P do solo

A atividade das enzimas de solo foi determinada no Laboratório de Microbiologia do Solo da ESALQ/USP em Piracicaba, seguindo a metodologia adaptada de Tabatabai (1994). Para a enzima arilsulfatase, foram pesadas três amostras de um grama de cada parcela, colocadas em tubos de ensaio, para comporem duas repetições analíticas e o controle. Foram adicionados 4 mL de tampão acetato (pH 5,8) e 1 mL de p-nitrofenol sulfato (PNS), exceto nos controles. Os frascos foram agitados, tampados e incubados em banho-maria à 37°C por 1 hora. Em seguida, adicionou-se 1 mL de cloreto de cálcio (CaCl₂) 0,5M, 4 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 0,5M e, por fim, 1 mL de p-nitrofenol sulfato (PNS) aos controles. Os frascos foram agitados novamente e a solução foi filtrada em papel filtro Whatman nº 2. Após a filtragem, foi realizada a determinação da absorbância

em espectrofotômetro à 410 nm. Os dados de absorbância foram convertidos para a atividade da arilsulfatase em mg p-nitrofenol kg^{-1} solo h^{-1} .

Para a determinação da atividade da enzima beta-glicosidase, foram pesadas três repetições de 1 g de solo para cada parcela, adicionando-se 4 mL de tampão universal modificado (MUB) com pH 6,0 e 1 mL de p-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo (PNG 0,025M), não adicionando este último nos frascos controles. Após isso, os frascos também foram agitados, tampados e incubados em banho-maria à 37 °C por 1 hora. Após isso, foram adicionados 1 mL de cloreto de cálcio (CaCl_2) (0,5M), 4 mL de tris-hidroximetil-amino-metano (THAM) com pH 12,0 em todos os frascos e 1 mL de PNG apenas nos frascos controles. Com isso, os tubos foram agitados novamente e filtrados da mesma forma descrita para a enzima anterior, com determinação da absorbância em espectrofotômetro à 420 nm. Os dados obtidos foram convertidos para a atividade da beta-glicosidase em mg p-nitrofenol kg^{-1} solo h^{-1} .

A enzima fosfatase ácida foi realizada de forma similar às anteriores. Após a pesagem das três réplicas de solo de cada parcela (1 g), foram adicionados 4 mL de tampão universal modificado (MUB) pH 6,5 e 1 mL de p-nitrofenil fosfato (PNF) em cada frasco. Também foram considerados dois controles negativos, para os quais se adicionou apenas tampão universal modificado (MUB), sem o p-nitrofenil fosfato (PNF). Logo depois, ocorreu a agitação dos frascos, que foram tampados e incubados à 37 °C por 1 hora. Terminada a incubação, foram adicionados 1 mL de cloreto de cálcio (CaCl_2) 0,5M e 4 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 0,5M. Nos tubos controles adicionou-se também 1 mL de p-nitrofenil fosfato (PNF). Após segunda agitação dos frascos, a solução foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 2. Após a filtragem, foi realizada a determinação da absorbância em espectrofotômetro à 410 nm. Os dados de absorbância obtidos foram convertidos para a atividade da fosfatase ácida em mg p-nitrofenol kg^{-1} solo h^{-1} .

Por fim, a atividade da enzima desidrogenase no solo foi determinada de acordo com metodologia descrita em Casida *et al.*, (1964). Assim, 5 g de solo seco (< 2mm) foram pesados e colocados em tubos, recebendo 0,03 g de carbonato de cálcio, 0,5 mL de cloreto de 2,3,5- trifeniltetrazólio (TTC) e 1,3 mL de água destilada. Após agitação dos tubos em vórtex, foram tampados e incubados em banho maria a 37° C por 24 horas. Após o período de incubação, foi adicionado 10 mL de metanol, os frascos foram agitados, centrifugados e, por fim, determinou-se a absorbância da solução sobrenadante em espectrofotômetro com absorbância de 485 nm. Com os dados de absorbância e curva padrão de trifetilformazan (TPF), os dados foram convertidos para $\mu\text{g TPF g}^{-1}$ solo seco dia^{-1} .

O CBM e a RBS foram determinadas no Laboratório de Microbiologia Agrícola da FCAV/UNESP em Jaboticabal. O CBM foi determinado com a metodologia fumigação-extração (Vance *et al.*, 1987), sendo a relação solo/extrator 1/2,5 (Tate *et al.*, 1988) e $k_c = 0,33$ preconizado por Sparling e West (1988). Isso foi realizado com a adição de clorofórmio (isento de etanol) diretamente em 20 g de solo de cada amostra (Brookes *et al.*, 1982; Witt *et al.*, 2000), mantendo-as em local escuro por 24 horas. Em seguida, foi realizada a extração e quantificação do carbono microbiano pelo método descrito por Tedesco *et al.* (1995). A extração foi feita com solução aquosa de sulfato de potássio (K_2SO_4) a 0,5 M e a quantificação foi realizada por titulação de uma alíquota do extrato que foi oxidada com excesso de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) 0,066 M em meio ácido e determinado esse excedente com sulfato ferroso amoniacal ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$) 0,033 M. A determinação foi feita pela diferença entre as quantidades de carbono da amostra fumigada e outra não fumigada, submetida aos mesmos procedimentos.

A RBS foi determinada com 50 g de solo acondicionada em recipiente de vidro de 2,5 L, com metodologia adaptada de Silva *et al.* (2007). A umidade do solo foi ajustada para 60% da capacidade de retenção de água (CRA). Cada recipiente de 2,5 L continha 1 frasco de 100 mL, com 10 mL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Os recipientes foram vedados com filme plástico PVC, tampa, e incubados em estufa BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio), com ausência de luz e à 25-28 °C por 7 dias. Após a incubação, adicionou-se 2 mL de solução de cloreto de bário ($BaCl_2$) 10% e três gotas de solução de fenolftaleína 1% (m/v) no frasco com hidróxido de sódio (NaOH) $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida, realizou-se a titulação com ácido clorídrico (HCl) $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Adicionalmente foram feitos dois controles com ausência de solo.

A quantificação de esporos do solo foi realizada seguindo metodologia de Novais *et al.* (2017) no Laboratório de Física do Solo da FEIS/UNESP em Ilha Solteira. O procedimento consistiu em obter 50 mL de solo moído em peneira ($< 2 \text{ mm}$) das amostras de solo de cada parcela e agitar essa alíquota em água. Após 1 minuto de repouso para decantação das partículas mais pesadas do solo, a solução foi vertida em jogo de peneiras ($0,42 \text{ mm} + 0,053 \text{ mm}$). Esse procedimento foi repetido sucessivas vezes até que a água vertida após a decantação estivesse praticamente límpida. Em seguida, água corrente foi utilizada para retirar o excesso de argila das peneiras e o material retido foi transferido para um tubo Falcon de 50 mL. Os tubos com os pesos devidamente equiparados, foram colocados em centrifuga à 3000 rpm por 3 minutos, descartando-se o sobrenadante em seguida. Finalmente, solução de sacarose 50% foi adicionada até o nível de 40 mL dos

tubos Falcons, agitando a solução para suspensão do precipitado. Os tubos com os pesos equiparados foram levados à centrifuga à 2000 rpm por 2 minutos para separação dos esporos no sobrenadante das partículas mais pesadas no precipitado. Com isso, o sobrenadante foi vertido na peneira de 0,053 mm, lavado com água corrente e transferido para placa canaletada com um traço delimitando seu raio para determinar o ponto de início e fim da contagem de esporos. A contagem foi realizada com auxílio de microscópio estereoscópico com aumento de 4x.

As análises de determinação das frações de P e do P microbiano foram realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo da ESALQ/USP em Piracicaba. Por fim, foi realizado o esquema simplificado de fracionamento do P do solo de acordo com a metodologia mais atual, proposta por Gatiboni e Condrón (2021). Para isso, 0,5 g do solo seco ao ar foi extraído sequencialmente usando 10 mL de Mehlich-3, hidróxido de sódio (NaOH) 0,5 M e ácido clorídrico (HCl) 1 M e agitado por 5 min, 30 min e 30 min, respectivamente. O P total no extrato de hidróxido de sódio (NaOH) foi determinado pela digestão com ácido sulfúrico (H₂SO₄) e persulfato de amônio ((NH₄)₂S₂O₈) em autoclave a 121 °C. Outra amostra de 0,1 g de solo foi digerida com ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) na presença de cloreto de magnésio (MgCl₂) saturado, para determinação do P total, seguindo o método proposto por Olsen e Sommers (1982). O P ocluído foi obtido pela diferença entre o P total e a soma dos teores de P das extrações sequenciais. O teor de P em cada extrato foi medido pelo método colorimétrico de Murphy e Riley (1962); e P orgânico no extrato alcalino (em NaOH) foi obtido pela diferença entre P total e P inorgânico. Finalmente, essas frações foram calculadas e classificadas em P lábil (Mehlich-3), moderadamente lábil (Pi-NaOH + Po-NaOH + P-HCl) e não lábil (P ocluído).

Foi realizada a determinação do P microbiano de acordo com metodologia modificada de Brookes *et al.*, (1982). Assim, foram pesadas 3 subamostras de 2 g de solo seco das amostras de cada parcela. Uma destas subamostras foi fumigada com clorofórmio (CHCl₃) por 24 horas. Depois, o P das subamostras foi extraído com bicarbonato de sódio (NaHCO₃) pH 8,5 e na terceira subamostra foi adicionado 50 mg L⁻¹ de P na solução extratora para corrigir o Pi adsorvido pelo próprio solo (Morel *et al.*, 1996). Os teores de P foram determinados pelo método de Murphy e Riley (1962).

5.2.4 Análise estatística

A análise conjunta dos dados obtidos levou em conta a subdivisão no tempo como os dois momentos de coleta de solo e esse fator tempo será mencionado como “Anos” (Pimentel-Gomes, 2022). Utilizando o software estatístico SISVAR®, foi realizada a análise de variância (ANAVA) e quando esta indicou significância ($p < 0,05$), foi feito o teste de comparação de médias Scott-Knott (5%) para o fator BPCP. Para o fator FMA, o teste F da ANAVA foi conclusivo (Ferreira, 2019). Não se realizou a comparação de médias do fator Anos por não ser o objetivo deste trabalho e porque as diferenças entre os dois anos de cultivo podem ser consequência de variações ambientais.

5.3 RESULTADOS

A análise conjunta considerando as inoculações dos fatores BPCP e FMA e as parcelas subdivididas no tempo indicou diferenças entre o fator Anos para alguns dos parâmetros de solo avaliados, não sendo realizada a comparação entre os dois anos já que essa variação era esperada em função das variações dos fatores ambientais não controlados entre anos.

As inoculações com BPCP e a coinoculação destas com o FMA não influenciaram a atividade das enzimas arilsulfatase e beta-glicosidase do solo (Tabela 5.1). No entanto, a combinação desses dois fatores influenciou a atividade da fosfatase ácida do solo, com os tratamentos testemunha não inoculada com BPCP e inoculados com *Az. brasilense*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai*, *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense* resultando nos maiores valores para esta enzima nas parcelas sem *R. clarum* coinoculado (Figura 5.1). A maior diferença numérica ocorreu entre as parcelas inoculadas com *Az. brasilense* e *A. macrocytogenes*, com o primeiro resultando em aumento de 30% de atividade da fosfatase ácida no solo. Nas parcelas inoculadas com FMA, não houve diferenças na atividade da fosfatase ácida do solo entre as BPCP. Por fim, a atividade dessa enzima foi 15,6% maior na inoculação de *Az. brasilense* em relação à essa bactéria coinoculada com o FMA. O inverso ocorreu com *A. macrocytogenes*, em que a atividade da fosfatase aumentou 20,7% quando *R. clarum* foi coinoculado. Por fim, a atividade da enzima desidrogenase foi incrementada pela inoculação com *R. clarum* em 7,06% em relação às parcelas não inoculadas com o fungo.

Houve interação entre BPCP e Anos para o CBM, de modo que em 2022 não houve diferenças nas parcelas inoculadas com diferentes BPCP (Figura 5.2), mas em 2023 a CBM foi maior após a inoculação de *A. macrocytogenes* (aumento de 105,6% em relação à testemunha não inoculada com BPCP), seguido pelas inoculações com *Az. brasilense*, *Azot. beijerinckii* e *Bur. vietnamiensis*. Os menores valores de CBM ocorreram nos tratamentos testemunha não inoculada com BPCP e inoculados com *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai* e *N. amazonense*.

A RBS foi influenciada pela interação entre os fatores BPCP, FMA e Anos. O desdobramento indicou que em 2022, todas as inoculações apenas com BPCP resultaram em maior RBS do que a testemunha não inoculada com BPCP (Tabela 5.2), com aumento máximo de 176,9% (*N. amazonense* x testemunha não inoculada). Ainda em 2022, com a coinoculação de FMA, não houve diferenças na RBS em função das BPCP inoculadas. No ano seguinte e sem a inoculação de *R. clarum*, o tratamento com a bactéria *Bur. vietnamiensis* resultou em maior RBS (21,4% maior que a RBS do tratamento testemunha não inoculada com BPCP), seguida pelos tratamentos testemunha não inoculada com BPCP e inoculado com *N. amazonense*. No mesmo ano de 2023, com a coinoculação de *R. clarum*, maior RBS ocorreu nas áreas inoculadas com *Az. brasilense*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai*, *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense*, juntamente com o tratamento testemunha não inoculada com BPCP. Ainda em 2023, a coinoculação de *Az. brasilense* com FMA resultou em RBS 58,3% maior do que a inoculação da bactéria isolada. Resultado inverso foi observado na inoculação de *Bur. vietnamiensis*, cujo RBS foi 25,4% maior do que na coinoculação com FMA. Não houve efeito dos tratamentos sobre a quantidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares do solo.

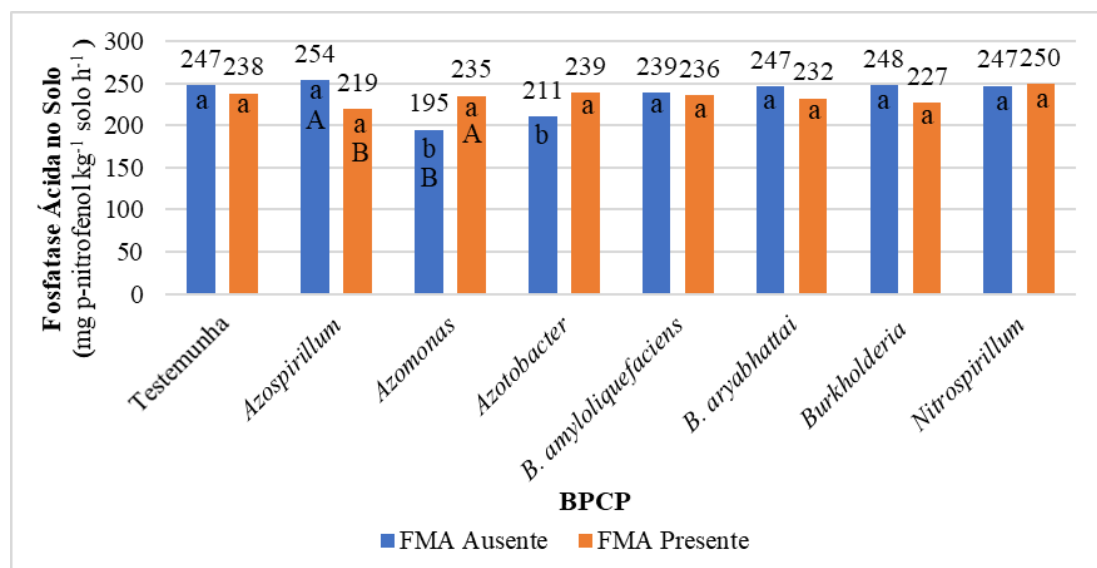
Tabela 5.1 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito das bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para atividade das enzimas de solo arilsulfatase, beta-glicosidase, fosfatase ácida, desidrogenase, carbono da biomassa microbiana (CBM), respiração basal do solo (RBS) e número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no solo. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	Arilsulfatase	Beta-glicosidase	Fosfatase	Desidrogenase	CBM	RBS	Esporos
	p-valor						
BPCP	0,324	0,200	0,148	0,409	0,005	<0,001	0,633
FMA	0,987	0,926	0,805	0,050	0,617	0,741	0,352
BPCP x FMA	0,377	0,754	0,047	0,426	0,643	0,371	0,317
Anos (A)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,016	<0,001	0,010
A x BPCP	0,275	0,166	0,297	0,853	0,050	<0,001	0,141
A x FMA	0,286	0,534	0,700	0,764	0,313	0,529	0,367
A x BPCP x FMA	0,071	0,134	0,481	0,324	0,116	0,002	0,504
2) Médias	Arilsulfatase	Beta-glicosidase	Fosfatase	Desidrogenase	CBM	RBS	Esporos
BPCP	----- mg p-nitrofenol kg ⁻¹ solo h ⁻¹ -----			µg TPF g ⁻¹ solo seco dia ⁻¹	mg C kg ⁻¹ solo	mg CO ₂ m ⁻² h ⁻¹	n° 50 mL ⁻¹ solo
Testemunha	48,33	51,88	242,78	2,69	80,10	0,52	97,42
<i>Azospirillum brasilense</i>	46,15	52,40	236,48	2,84	114,44	0,56	77,92
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	48,11	49,14	215,22	2,90	158,77	0,52	83,33
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	44,43	48,47	224,81	2,66	116,52	0,54	78,08
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	42,38	48,83	237,35	2,58	88,58	0,58	83,25
<i>Bacillus aryabhattai</i>	49,84	53,96	239,63	2,81	114,06	0,61	88,58
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	50,67	53,25	237,56	2,98	116,84	0,68	79,83
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	52,92	52,76	248,30	2,89	68,58	0,69	84,17
FMA (<i>Rhizoglossum clarum</i>)							
Ausente	47,87	51,40	235,97	2,70 b	109,82	0,59	86,56
Presente	47,84	51,28	234,56	2,89 a	104,65	0,58	81,58
Média geral	47,85	51,34	235,27	2,79	107,24	0,59	84,07
CV1(%)	22,51	11,97	11,84	16,41	46,75	16,08	30,71
CV2(%)	18,24	12,23	14,20	14,95	51,63	15,23	30,67

Nota: CV1 e CV2 (%): coeficientes de variação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

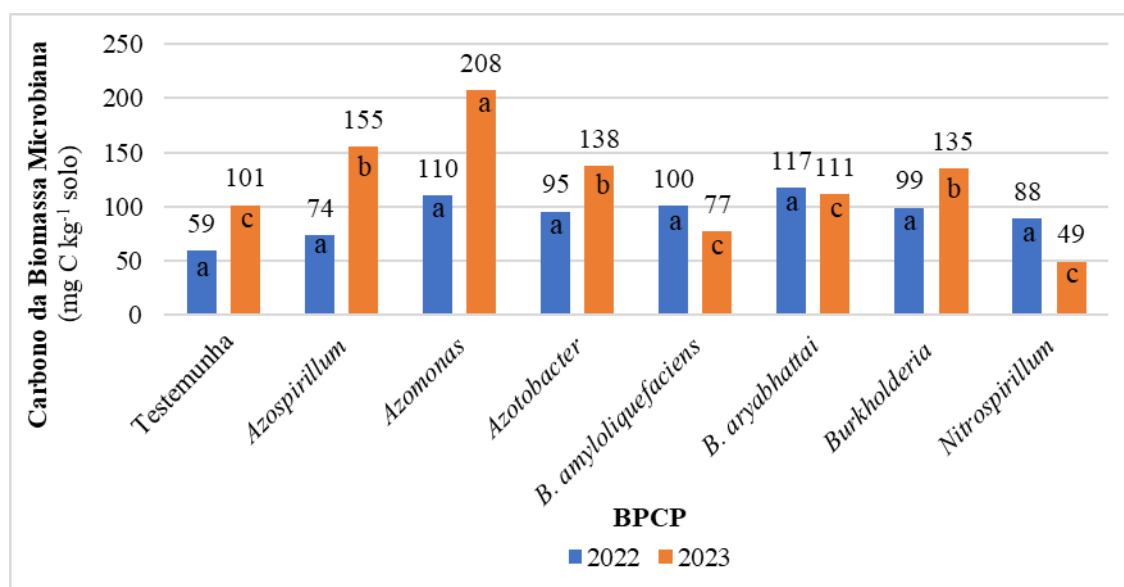
Figura 5.1 Desdobramento da interação entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e *Rhizoglossus clarum* (FMA) sobre a atividade da fosfatase ácida do solo



Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas dentro de cada inoculação com FMA e maiúsculas dentro de cada BPCP, não diferem entre si pelo teste F e pelo teste de Scott-Knott (5%), respectivamente.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 5.2 Desdobramento da interação entre a inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e os anos de experimento sobre o carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) após inoculações em milho e feijão



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

Tabela 5.2 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Rhizoglosum clarum* (FMA) e os anos de experimento sobre a respiração basal do solo (RBS)

ANO	2022		2023	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	0,26 b	0,38 a	0,76 b	0,66 a
<i>Azospirillum brasilense</i>	0,59 a	0,48 a	0,45 cB	0,71 aA
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	0,60 a	0,54 a	0,48 c	0,45 b
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	0,63 a	0,58 a	0,43 c	0,51 b
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,60 a	0,52 a	0,58 c	0,61 a
<i>Bacillus aryabhatai</i>	0,58 a	0,65 a	0,59 c	0,63 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	0,49 a	0,58 a	0,93 aA	0,74 aB
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	0,72 a	0,58 a	0,75 b	0,70 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada ano, não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

O fracionamento de P indicou que a fração de P lábil foi influenciada pela interação tripla dos fatores (Tabela 5.3), cujo desdobramento permite verificar que em 2022, maior teor de P lábil ocorreu nas parcelas inoculadas com *Azot. beijerinckii* (Tabela 5.4), sendo 69,7% superior ao valor observado nas parcelas do tratamento testemunha não inoculada com BPCP. Ainda em 2022, a inoculação da bactéria *Azot. beijerinckii* apresentou 50,1% mais P lábil do que quando coinoculada com FMA. Em 2023, foi verificado mais P lábil nos tratamentos testemunha não inoculada com BPCP e inoculados com *Az. brasilense* e *N. amazonense*. Dentro do tratamento testemunha não inoculada com BPCP, ocorreu maior teor de P lábil (+68,0%) em relação à inoculação de *R. clarum*. Nas inoculações com *A. macrocytogenes* e *Azot. beijerinckii*, a coinoculação de *R. clarum* resultou em acréscimo de 48,0% e 56,3% no teor de P lábil, respectivamente, em relação à ausência de *R. clarum* combinado.

Não houve efeito dos tratamentos para a fração de P moderadamente lábil. E para a fração não-lábil, apesar da significância na interação Anos e FMA inoculado constatada pela ANAVA, o desdobramento não indicou diferenças entre a ausência e presença de *R. clarum* inoculado (Figura Suplementar S5.1). O P microbiano foi influenciado pela interação entre BPCP e Anos, com maior teor de P microbiano nos tratamentos testemunha não inoculada com BPCP e inoculados com *A. macrocytogenes* e *N. amazonense* no ano de 2022 (Figura 5.3). No ano seguinte, apenas o tratamento testemunha não inoculada com BPCP e a inoculação de *Bur. vietnamiensis* apresentaram teor de P microbiano superior aos demais tratamentos bacterianos.

Tabela 5.3 1) Análise de variância (ANAVA) associada ao efeito de bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e anos (A) para frações de fósforo lábil, moderadamente lábil (Mod. Lábil), não lábil e fósforo microbiano no solo. 2) Médias dos tratamentos das BPCP e FMA para as variáveis analisadas

1) ANAVA	Lábil	Mod. Lábil	Não lábil	P Microbiano
	p-valor			
BPCP	0,380	0,419	0,810	0,039
FMA	0,286	0,533	0,977	0,579
BPCP x FMA	0,099	0,676	0,342	0,181
Anos (A)	0,031	0,874	0,001	0,385
A x BPCP	0,064	0,982	1,000	0,019
A x FMA	0,598	0,155	0,032	0,127
A x BPCP x FMA	0,016	0,399	0,993	0,147
2) Médias	Lábil	Mod. Lábil	Não lábil	P Microbiano
BPCP	----- mg kg ⁻¹ solo -----			
Testemunha	34,48	135,90	264,62	1,70
<i>Azospirillum brasilense</i>	40,90	147,45	246,82	0,71
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	38,61	140,68	260,30	1,27
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	39,88	148,56	275,66	1,19
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	39,20	137,26	268,18	0,67
<i>Bacillus aryabhattai</i>	39,07	148,56	264,34	0,45
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	33,25	148,31	254,53	1,75
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	39,29	146,55	263,42	1,56
FMA (<i>Rhizoglosum clarum</i>)				
Ausente	37,10	145,84	262,10	1,10
Presente	39,07	143,30	262,35	1,23
Média geral	38,08	144,57	262,23	1,16
CV1(%)	23,35	13,65	15,85	94,74
CV2(%)	22,40	17,16	15,53	88,72

Nota: CV1 e CV2 (%): coeficientes de variação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

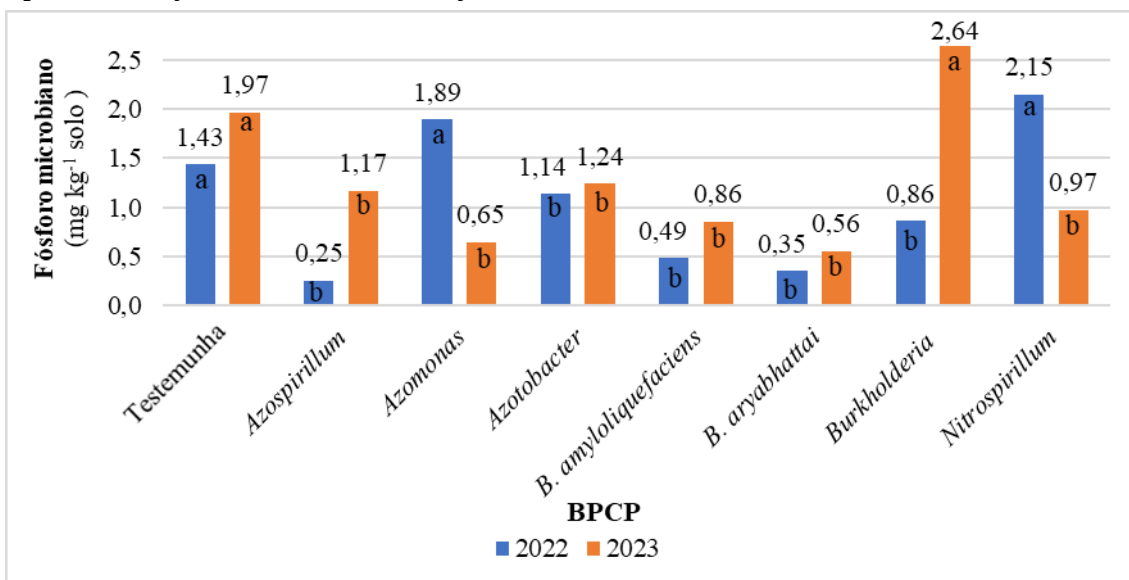
Tabela 5.4 Desdobramento da interação entre as inoculações com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), *Rhizoglosum clarum* (FMA) e os anos de experimento sobre a fração de P lábil do solo

ANO	2022		2023	
BPCP/FMA	FMA Ausente	FMA Presente	FMA Ausente	FMA Presente
Testemunha	31,89 b	32,10 a	46,35 aA	27,58 aB
<i>Azospirillum brasilense</i>	33,84 b	40,20 a	49,41 a	40,15 a
<i>Azomonas macrocytogenes</i>	30,30 b	43,64 a	32,45 bB	48,04 aA
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	54,11 aA	36,04 aB	27,07 bB	42,30 aA
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	31,17 b	44,61 a	39,12 b	41,89 a
<i>Bacillus aryabhattai</i>	40,71 b	35,94 a	36,25 b	43,38 a
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	28,87 b	31,02 a	33,07 b	40,04 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	33,74 b	29,43 a	45,22 a	48,76 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada ano, não diferem entre si pelo teste F para FMA e pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP.

Fonte: Dados do próprio autor.

Figura 5.3 Desdobramento da interação entre a inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e os anos de experimento sobre o P microbiano do solo após inoculações em milho e de feijão



Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (5%) para BPCP dentro de cada ano.

Fonte: Dados do próprio autor.

5.4 DISCUSSÃO

Neste capítulo, buscou-se entender como os cultivos sucessivos inoculados com BPCP e coinoculados com *R. clarum* podem influenciar a atividade biológica do solo, os esporos de FMA do solo e a dinâmica de P (por meio da análise de fracionamento do P do solo). Este estudo é inédito ao comparar o efeito da inoculação individual ou combinada de diferentes espécies de BPCP e um FMA por quatro cultivos sucessivos e verificar como influenciam o solo em uma área agrícola. Os resultados obtidos evidenciaram que a combinação dos dois grupos de microrganismos modifica os indicadores biológicos do solo como o CBM, a RBS e a atividade da fosfatase ácida e a desidrogenase e a dinâmica do P no mesmo, embora apenas nas frações de P lábil e P microbiano do solo foram observadas variações decorrentes das inoculações ao longo dos cultivos.

As atividades das enzimas arilsulfatase e beta-glicosidase não foram influenciadas pelas inoculações realizadas. Essas enzimas são secretadas pela comunidade microbiana nativa do solo que, por sua vez, é influenciada por diversos fatores ambientais, incluindo pH do solo, disponibilidade de nutrientes minerais e de carbono (Dedourge *et al.*, 2004; Knights *et al.*, 2001; Ketudat *et al.*, 2010). No caso da arilsulfatase, sua síntese é inibida quando há sulfato disponível no meio (Dodgson *et al.*, 2018, Kertesz *et al.*, 1993). Além disso, os gêneros bacterianos

mais relacionados com esta enzima são *Rhodococcus*, *Arthrobacter* e *Pseudomonas* (Cregut *et al.*, 2009, 2013; Slezack-Deschaumes *et al.*, 2012; Stressler *et al.*, 2016), que não foram inoculados neste experimento.

A beta-glicosidase, por sua vez, é sintetizada por diversos fungos e bactérias para converter a celobiose em glicose (Alef; Nannipieri, 1995), com destaque para fungos filamentosos, leveduras e principalmente fungos microscópicos (Singhania *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2013; Saloheimo *et al.*, 2002; Kurasawa *et al.*, 1992), que não foram inoculados neste trabalho.

No entanto, estudos sugerem que os FMA estão associados ao aumento da atividade de beta-glicosidase no solo, ao recrutarem microrganismos benéficos do solo por meio da liberação de exsudatos, como açúcares e ácidos orgânicos (Conceição *et al.*, 2022). Esses microrganismos recrutados, por sua vez, podem produzir beta-glicosidase como parte de seus processos metabólicos, conforme já dito. No caso particular do presente estudo, pode ser que qualquer alteração menor causada pelas inoculações realizadas tenha sido ocultada pelo fato da área experimental estar na fase inicial de implantação do sistema plantio direto (SPD). Isso porque a atividade da beta-glicosidase é geralmente aumentada 1-3 anos após a adoção de práticas de manejo conservacionistas como o SPD (Richardson *et al.*, 2008).

A inoculação de *R. clarum* resultou em aumento na atividade da desidrogenase, assim como relatado em outros trabalhos como Anandakumar *et al.* (2024) que inocularam *R. intraradices* em *Vigna mungo* L. (blackgram) e Buzo *et al.* (2022) que verificaram aumento da atividade dessa enzima após inoculação de *R. intraradices* em feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), ambos com cultivos em vasos. Isso indica um benefício da inoculação com FMA no solo, pois o aumento da atividade dessa enzima está associado com maior atividade biológica do solo (Kumar *et al.*, 2013; Wolinskà; Stępniewska, 2012).

Apesar de estudos demonstrarem que a inoculação individual de FMA pode modificar a atividade da fosfatase ácida do solo, pois há produção e secreção desta enzima pelas hifas de FMA (Sato *et al.*, 2019; Javot *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 2006; Ezawa; Saito, 2018), no presente estudo, a inoculação apenas de *R. clarum* não alterou este parâmetro. É possível que diferentes espécies de FMA apresentem capacidades distintas para influenciar a atividade da fosfatase ácida no solo. Normalmente se estuda *R. irregularis* ou *F. mosseae* (Wang *et al.*, 2022b; Yixuan *et al.*, 2024; Sun *et al.*, 2024; Wu *et al.*, 2021; Farhadi *et al.*, 2023), enquanto que os efeitos de *R. clarum* na atividade enzimática estão pouco documentados. Além disso, a atividade dessa enzima não depende simplesmente da inoculação de microrganismos, como também da comunidade microbiana nativa do solo que sintetiza essa enzima (Kobae, 2019) e das condições ambientais (Adetunji *et al.*, 2017).

O CBM, RBS e a quantidade de esporos de FMA no solo também não foram alterados pela inoculação do FMA *Rhizoglossum clarum*. Apesar de alguns trabalhos relatarem que as hifas dos FMA contribuem tanto quanto as raízes de plantas com a RBS (Tomè *et al.*, 2016), isso não é consenso, pois outros trabalhos não verificaram aumento nesse parâmetro após a inoculação de um FMA (Lermen *et al.*, 2017; Raiesi *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2016a). A quantidade de esporos no solo em áreas agrícolas é mais influenciada pelas condições edafoclimáticas do local (Silva-Flores *et al.*, 2019) e pelo manejo, com adaptação da comunidade de FMA nativa. Por exemplo, a adoção do SPD e a rotação de culturas podem beneficiar a quantidade de esporos de solo (Moitinho *et al.*, 2020; Gu *et al.*, 2020), enquanto que a inoculação de um FMA em área sob SPD não alterou esse parâmetro (Buzo *et al.*, 2023).

Também não houve variações nas frações de P do solo com a inoculação de *R. clarum*, pois a principal estratégia dos FMA para fornecimento de P para as plantas é aumentar o volume de solo explorado, buscando P para além da zona de depleção das raízes (Etesami *et al.*, 2021; Ferrol *et al.*, 2019). A produção de fosfatases pelas hifas micorrízicas e o favorecimento de BPCP solubilizadoras de fosfato ao redor das hifas dos FMA (Kobae, 2019; Wang *et al.*, 2023; Ordoñez *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016b; Battini *et al.*, 2017) nem sempre é suficiente para modificar as frações de P do solo, pois seus efeitos são restritos à região da hifosfera (Jiang *et al.*, 2021; Basiru *et al.*, 2023).

A inoculação com *Az. brasilense* aumentou o CBM e reduziu a RBS em relação à testemunha não inoculada com BPCP em 2023. O aumento do CBM sugere maior proliferação de microrganismos no solo e até mesmo maior incorporação de C por parte deles, enquanto a RBS muitas vezes é limitada pelo suprimento de substrato biologicamente disponível ao invés do tamanho do CBM (Wang *et al.*, 2003). Além disso, Sakamoto e Oba (1994) demonstraram que a razão biomassa fúngica/biomassa bacteriana influencia a respiração do solo, de modo que o aumento dessa razão se relaciona negativamente com a respiração do solo, devido à maior eficiência do uso do substrato C pela fração fúngica em comparação com a fração bacteriana. Desse modo, a combinação entre maior CBM e menor RBS sugere que os microrganismos estão utilizando o carbono disponível de forma mais eficiente, com menor perda de CO₂ (Hu *et al.*, 2011).

O P microbiano foi reduzido após inoculação de *Az. brasilense*. Esta bactéria é relatada como tendo baixa ou ausente capacidade de solubilizar fosfato (Rodriguez *et al.*, 2004; Perrig *et al.*, 2007; Cassán *et al.*, 2015), explicando a ausência de efeitos de *Az. brasilense* sobre as frações de P do solo, incluindo o P microbiano. Ainda assim, a literatura carece de estudos que mensurem como a inoculação de *Az. brasilense* influencia as frações de P do solo.

A coinoculação de *Az. brasilense* com o FMA reduziu a atividade da fosfatase ácida. Apesar da coinoculação de FMA com bactérias solubilizadoras de P potencializar a nutrição de P para as culturas (Kucey, 1983) e a inoculação de *R. intraradices* e *Az. brasilense* aumentar a atividade dessa enzima em plantas pioneiras cultivadas em área degradada por mineração de carvão (Meyer *et al.*, 2024), sabe-se que a secreção dessa enzima é inibida pela presença de P inorgânico disponível, proveniente por exemplo da aplicação de fertilizantes fosfatados mineiros (Janes-Bassett *et al.*, 2022), como neste experimento. Portanto, são necessários trabalhos que testem a coinoculação de *Az. brasilense* e *R. clarum* em condições de adubação fosfatada reduzida para verificar os efeitos no solo e na cultura agrícola.

A inoculação individual de *A. macrocytogenes* também resultou em menor atividade da fosfatase ácida, ao mesmo tempo que o P lábil e o P microbiano foram reduzidos em 2023. Outras espécies do mesmo gênero são relatadas como solubilizadoras de fosfato (Garg *et al.*, 2001; Chennappa *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2001), porém a falta de estudos publicados com esta bactéria dificulta a interpretação dos resultados, não sendo encontrados trabalhos descrevendo se a mesma possui habilidade de solubilizar ou mineralizar fosfatos. Por outro lado, em 2023, a inoculação de *A. macrocytogenes* resultou no maior CBM do solo e causou redução da RBS, da mesma forma que verificado com a inoculação de *Az. brasilense*. Porém, não foram encontrados trabalhos estudando a influência de *Azomonas* sobre o CBM e a RBS.

Diferentemente do encontrado com a inoculação individual de *A. macrocytogenes*, sua coinoculação com o FMA aumentou a atividade da fosfatase ácida do solo e o P lábil do solo em 2023. Isso sugere que, embora a inoculação isolada não seja recomendada, a inclusão de *R. clarum* pode ser positiva para a atividade da fosfatase e potencializar os resultados alcançados com a inoculação individual dos dois microrganismos. O P microbiano foi reduzido, enquanto o P lábil do solo foi aumentado em 2022 e posteriormente reduzido em 2023. Este resultado pode sugerir que as condições de fertilização fosfatada do solo talvez estejam exercendo um efeito negativo sobre a interação entre a BPCP e as dinâmicas de P no solo.

Ao inocular *Azot. beijerinckii*, ocorreu redução da fosfatase ácida, aumento de CBM em 2023, aumento da RBS em 2022 e redução em 2023. O P lábil do solo foi aumentado em 2022 e reduzido em 2023, enquanto o P microbiano foi reduzido nos dois anos. O efeito dessa bactéria sobre a atividade da fosfatase e a fração de P lábil do solo se justifica pelo fato de bactérias deste gênero serem capazes de disponibilizar fosfato na rizosfera das plantas, por meio da produção de fosfatase e de exopolissacarídeos (Kumar *et al.*, 2001; Nosrati *et al.*, 2014; Biełło *et al.*, 2023; Kalayu, 2019; Rawat *et al.*, 2021).

Por outro lado, a inoculação individual de *Azot. beijerinckii* provocou um aumento de CBM e uma redução de RBS no final do ensaio, em 2023. Não foram encontrados estudos que mensurassem o efeito da inoculação de *Azotobacter* sobre o CBM e a RBS, mas conforme verificado com a inoculação de *Az. brasilense*, estes resultados podem estar relacionados com a razão entre fungos e bactérias da biomassa microbiana, a disponibilidade de substrato biologicamente disponível para os microrganismos e a eficiência de uso de C pela biomassa microbiana. Assim, as inoculações de *Az. brasilense*, *A. macrocytogenes* e *Azot. beijerinckii* podem ter resultado em alguma modificação nos exsudatos radiculares, na razão fungos: bactérias ou na eficiência de uso do C pela biomassa microbiana do solo que levaram a esse resultado.

A coinoculação de *Azot. beijerinckii* com *R. clarum* também reduziu a RBS, enquanto aumentou a concentração de P lábil nos dois anos do experimento. Apesar da ausência de trabalhos sobre esta combinação, esses resultados indicam que a interação entre essa bactéria e o FMA inoculado pode modular seus processos de disponibilização de fosfato e até melhorar os resultados observados com a inoculação individual da bactéria.

A bactéria *B. amyloliquefaciens* inoculada resultou em menor RBS e P lábil em 2023, além de reduzir o P microbiano nos dois anos do experimento. A inoculação de *B. aryabhattai* apresentou os mesmos efeitos que a inoculação de *B. amyloliquefaciens*. De modo geral, as espécies do gênero *Bacillus* são conhecidas como solubilizadoras de fosfato por meio da liberação de fosfatases, fitases e ácidos orgânicos (Patani *et al.*, 2024; Azeem *et al.*, 2023). Porém, é preciso observar que, ao promover maior crescimento vegetal, podem aumentar a absorção de P pelas plantas (Arif *et al.*, 2017; Azeem *et al.*, 2023), o que pode ter levado à redução na quantidade de P lábil do solo.

Quanto aos parâmetros biológicos, as inoculações com as duas espécies de *Bacillus* não aumentaram o CBM (Nassal *et al.*, 2018), mas foram capazes de aumentar a RBS (Santos, 2023; Teixeira, 2023), assim como no presente trabalho. Não houve efeitos diferenciais da coinoculação de *B. amyloliquefaciens* ou de *B. aryabhattai* com *R. clarum*.

A inoculação de *Bur. vietnamiensis* promoveu aumento do CBM em 2023, além de aumento da RBS em 2022 e 2023. O P lábil foi reduzido em 2023 enquanto o P microbiano foi reduzido em 2022 com esta inoculação bacteriana. As bactérias do gênero *Burkholderia* secretam ácidos orgânicos (Bai *et al.*, 2020; Liang *et al.*, 2020) e fosfatases, aumentando o P disponível (Liu *et al.*, 2022). Inicialmente isso contrasta com os resultados deste trabalho, mas como observado com a inoculação das espécies de *Bacillus*, a diminuição da concentração de P lábil pode estar relacionada com um efeito indireto das bactérias nas plantas, promovendo uma maior

absorção deste nutriente, e, portanto, resultando em redução desta fração de P. Além disso, os mecanismos de disponibilização de P dependem de outros fatores e tendem a ser menores quando há P disponível no meio (Raymond *et al.*, 2021), proveniente da adubação mineral fosfatada realizada neste trabalho, por exemplo.

Em contraste com o observado para a inoculação individual de *Bur. vietnamiensis*, quando se coinoculou a bactéria com *R. clarum*, a RBS foi reduzida ao final do segundo ano de experimento, sem influenciar o CBM. Esse efeito reflete uma interação complexa entre a BPCP, o FMA, as plantas e o microbioma do solo, potencialmente indicando modificação quantitativa em sua composição que levou a maior eficiência na utilização de recursos disponíveis no sistema (Sakamoto; Oba, 1994).

Finalmente, a bactéria *N. amazonense* inoculada resultou em redução do P microbiano em 2023. Esta bactéria é relatada como tendo capacidade de solubilizar fosfato inorgânico (Ribeiro *et al.*, 2020), mas não foram encontrados trabalhos na literatura mencionando a influência da inoculação de *N. amazonense* nos atributos biológicos e na dinâmica do P no solo. No presente estudo, a aplicação de fertilizantes com P inorgânico solúvel pode ter diminuído o P microbiano, pois as plantas acessam diretamente o nutriente, reduzindo a necessidade de interações com microrganismos para sua disponibilização, tal e como se indicou previamente no caso das bactérias *Az. brasilense*, *A. macrocytogenes*, *Azot. beijerinckii*, *B. amyloliquefaciens* e *B. aryabhatai*. Por outro lado, da mesma forma como nas espécies de *Bacillus* inoculadas, também não ocorreram efeitos para a coinoculação desta bactéria com *R. clarum* sobre os atributos do solo analisados.

5.5 CONCLUSÃO

Em síntese, os resultados deste estudo permitem concluir que as inoculações com BPCP e sua coinoculação com o FMA *Rhizoglossus clarum* modificam os indicadores biológicos do solo em um sistema de plantio direto no cerrado brasileiro. Porém evidencia-se que esse efeito depende da espécie inoculada e da combinação entre as BPCP e o FMA, juntamente com o ano cultivo, ocorrendo respostas específicas de cada tratamento e, ainda, dependentes da condição ambiental.

A inoculação de *R. clarum* aumenta a atividade biológica do solo, evidenciada pela maior atividade da enzima desidrogenase no solo. Apesar de a inoculação com *R. clarum* não influenciar, por si só, a atividade da fosfatase ácida do solo, coinocular esse FMA com *A.*

macrocytogenes ou *Azot. beijerinckii*, suprimiu o efeito negativo dessas bactérias sobre a atividade dessa enzima do solo.

As inoculações bacterianas influenciam a atividade biológica do solo, com *Az. brasilense* proporcionando aumento da biomassa microbiana e maior eficiência de uso de C pela mesma.

Conclui-se que as inoculações tiveram pouco efeito sobre a dinâmica do P, afetando apenas a fração lábil, sem influenciar as demais. Enquanto a inoculação de *Azot. beijerinckii* aumentou o P lábil do solo, verificou-se redução do mesmo após as inoculações de *A. macrocytogenes*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhatai* e *Bur. vietnamiensis*. Esses resultados demonstram a necessidade de estudos para elucidar, em condições de campo, quais condições em que os microrganismos solubilizadores de P efetivamente modificam as frações de P do solo e determinar quanto de P poderá ser disponibilizado em cada condição ambiental.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-MARTÍNEZ, V.; LASCANO, R.; CALDERÓN, F.; BOOKER, J. D.; ZOBECK, T. M.; UPCHURCH, D. R. Dryland Cropping Systems Influence the Microbial Biomass and Enzyme Activities in a Semiarid Sandy Soil. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 47, p. 655–667, 2011.
- ADETUNJI, A. T.; LEWU, F. B.; MULIDZI, R.; NCUBE, B. The biological activities of β -glucosidase, phosphatase and urease as soil quality indicators: a review. **Journal of soil science and plant nutrition**, Heidelberg, v. 17, n. 3, p. 794-807, 2017.
- AHAMADOU, B.; HUANG, Q. Impacts of Agricultural Management Practices on Soil Quality. In: XU, J.; SPARKS, D. (ed.). **Molecular Environmental Soil Science**. 1. Ed. Dordrecht: Springer, 2013. p. 429-480.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. Waltham: Academic Press, 1995.
- ANANDAKUMAR, S.; KALAISELVI, T.; KUTTIMANI, R.; UMAPATHI, M. Synergistic Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Rhizobium* on Glomalin Related Soil Protein and Biochemical Properties of Blackgram Rhizosphere Soil. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Heidelberg, v. 24, p. 5534-5551, 2024.
- ARIF, M. S.; RIAZ, M.; SHAHZAD, S. M.; YASMEEN, T.; ALI, S.; AKHTAR, M. J. Phosphorus-mobilizing rhizobacterial strain *Bacillus cereus* GS6 improves symbiotic efficiency of soybean on an Aridisol amended with phosphorus-enriched compost. **Pedosphere**, Beijing, v. 27, n. 6, p. 1049-1061, 2017.
- AZEEM, M.; JAVED, S.; ZAHOOR, A. F. *Bacillus* species as potential plant growth promoting rhizobacteria for drought stress resilience. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 70, n. 4, 59, 2023.
- BAI, B.; YANG, X.; ZHAO, Q.; LIU, R.; REN, J. Inoculations with *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus cereus* affect the soil enzyme activity, growth and rhizosphere microbial diversity of *Taxus chinensis* var. *mairei*. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 455, p. 41-52, 2020.
- BASIRU, S.; MHAND, K. A. S.; HIJRI, M. Disentangling arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria at the soil-root interface. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 33, n. 3, p. 119-137, 2023.
- BATTINI, F.; GRØNLUND, M.; AGNOLUCCI, M.; GIOVANNETTI, M.; JAKOBSEN, I. Facilitation of phosphorus uptake in maize plants by mycorrhizosphere bacteria. **Scientific Reports**, London, v. 7, 4686, 2017.
- BIELŁO, K. A.; LUCENA, C.; LÓPEZ-TENLLADO, F. J.; HIDALGO-CARRILLO, J.; RODRÍGUEZ-CABALLERO, G.; CABELLO, P.; SÁEZ, L. P.; LUQUE-ALMAGRO, V.; ROLDÁN, M. D.; MORENO-VIVIÁN, C.; OLAYA-ABRIL, A. Holistic view of biological nitrogen fixation and phosphorus mobilization in *Azotobacter chroococcum* NCIMB 8003. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 14, 1129721, 2023.

BROOKES, P. C.; POWLSON, D. S.; JENKINSON, D. S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 14, n. 4, p. 319-329, 1982.

BURNS, R. G.; DICK, R. P. **Enzymes in the environment: activity, ecology and applications**. New York: Marcel Dekker. 2002.

BUZO, F. S.; GARÉ, L. M.; GARCIA, N. F. S.; SILVA, M. S. R. A.; MARTINS, J. T.; SILVA, P. H. G.; MEIRELES, F. C.; SALES, L. Z. S.; NOGALES, A.; RIGOBELLO, E. C.; ARF, O. Effect of mycorrhizae on phosphate fertilization efficiency and maize growth under field conditions. **Scientific Reports**, London, v. 13, 3527, 2023.

BUZO, F. S.; GARÉ, L. M.; GARCIA, N. F. S.; SILVA, M. S. R. A.; SILVA, P. H. G.; MORITA, P. R. S.; CORREA, J. B.; MARTINS, J. T.; RIGOBELLO, E. C.; NOGALES, A.; ARF, O. Chemical seed treatment and mycorrhizal inoculation provide better development and nutrition of common bean plants. **Pest Management Science**, Oxford, v. 78, p. 2985-2994, 2022.

CAIRNS, J. R. K.; ESEN, A. β -Glucosidases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Cham, v. 67, p. 3389-3405, 2010.

CANFORA, L.; COSTA, C.; PALLOTTINO, F.; MOCALI, S. Trends in Soil Microbial Inoculants Research: A Science Mapping Approach to Unravel strengths and weaknesses of their application. **Agriculture**, Basel, v. 11, 158, 2021.

CASIDA, L. E.; KLEIN, D. A.; SANTORO, T. Soil dehydrogenase activity. **Soil Science**, Philadelphia, v. 98, p. 371-376, 1964.

CASSÁN, F. D.; OKON, Y.; CREUS, C. M. **Handbook for Azospirillum**. Londres: Springer, 2015. p. 978-983.

CHEN, H.; LIU, J.; LI, D.; XIAO, K.; WANG, K. Controls on soil arylsulfatase activity at a regional scale. **European Journal of Soil Biology**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 90, p. 9-14, 2019.

CHEN, M.; QIN, Y.; CAO, Q.; LIU, G.; LI, J.; LI, Z.; ZHAO, J.; QU, Y. Promotion of extracellular lignocellulolytic enzymes production by restraining the intracellular β -glucosidase in *Penicillium decumbens*. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 137, p. 33-40, 2013.

CHEN, Y.; WEN, Z.; MENG, J.; LIU, Z.; WEI, J.; LIU, X.; GE, Z.; DAI, W.; LIN, L.; CHEN, W. Positive effects of biochar application and *Rhizophagus irregularis* inoculation on mycorrhizal colonization, rice seedlings and phosphorus cycling in paddy soils. **Pedosphere**, Beijing, v. 34, n. 2, p. 361-373, 2024.

CHENNAPPA, G.; NAIK, M. K.; AMARESH, Y. S.; NAGARAJA, H.; SREENIVASA, M. Y. *Azotobacter*: A Potential Biofertilizer and Bioinoculants for Sustainable Agriculture. In: PANPATTE, D. G.; JHALA, Y. K.; VYAS, R. V.; SHELAT, H. N. (ed.). **Microorganisms for Green Revolution**. Londres: Springer, v. 1, 2017. p. 87-106.

CHOUDHARY, M.; JAT, H. S.; DATTA, A.; YADAV, A. K.; SAPKOTA, T. B.; MONDAL, S.; MEENA, R. P.; SHARMA, P. C.; JAT, M. L. Sustainable Intensification

Influences Soil Quality, Biota, and Productivity in Cereal-Based Agroecosystems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 126, p. 189-198, 2018.

CONCEIÇÃO, T. A.; ANDRADE, G.; BRITO, I. Influence of Intact Mycelium of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Soil Microbiome Functional Profile in Wheat under Mn Stress. **Plants**, Basel, v. 11, n. 19, 2598, 2022.

CONDON, L.M.; NEWMAN, S. Revisiting the fundamentals of phosphorus fractionation of sediments and soils. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 11, p. 830-840, 2011.

CREGUT, M.; PIUTTI, S.; SLEZACK-DESCHAUMES, S.; BENIZRI, E. Compartmentalization and regulation of arylsulfatase activities in *Streptomyces* sp., *Microbacterium* sp. and *Rhodococcus* sp. soil isolates in response to inorganic sulfate limitation. **Microbiological research**, Muenchen, v. 168, n. 1, p. 12-21, 2013.

CREGUT, M.; PIUTTI, S.; VONG, P. C.; SLEZACK-DESCHAUMES, S.; CROVISIER, I.; BENIZRI, E. Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 41, n. 4, p. 704-710, 2009.

DEDOURGE, O.; VONG, P. C.; LASSERRE-JOULIN, F.; BENIZRI, E.; GUCKERT, A. Effects of glucose and rhizodeposits (with or without cysteine-S) on immobilized-35S, microbial biomass-35S and arylsulphatase activity in a calcareous and an acid brown soil. **European Journal of Soil Science**, Chichester, v. 55, n. 4, p. 649-656, 2004.

DICK, R. P.; RASMUSSEN, P. E.; KERLE, E. A. Influence of Long-Term Residue Management on Soil Enzyme Activities in Relation to Soil Chemical Properties of a Wheat-Fallow System. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 6, p. 159-164, 1988.

DICK, R. P.; BREAKWELL, D. P.; TURCO, R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: DORAN, J.W.; JONES, A. J. (ed.). **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America Inc., 1996. p. 247-271.

DODGSON, K. S. **Sulfatases of microbial origin**. Boca Raton: CRC Press, 2018. v. 2.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America Inc., 1994. p. 3-21.

EICHLER-LÖBERMANN, B.; ZICKER, T.; KAVKA, M.; BUSCH, S.; BRANDT, C.; STAHN, P.; MIEGEL, K. Mixed Cropping of Maize or Sorghum with Legumes as Affected by Long-Term Phosphorus Management. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 265, 108120, 2021.

ETESAMI, H.; JEONG, B. R.; GLICK, B. R. Contribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Phosphate-Solubilizing Bacteria, and Silicon to P Uptake by Plant. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 12, 699618, 2021.

EZAWA, T.; SAITO, K. How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine-tuning of phosphate metabolism. **New Phytologist**, Chichester, v. 220, p. 1116-1121, 2018.

FARHADI, D.; ASGHARI, H. R.; FIROUZABADI, M. B.; ABBASPOUR, A. Improved Sweet Corn Growth, Yield and rhizosphere Enzymes by Application of *Funneliformis mosseae*, *Piriformospora indica* and Yeast Extract. **Gesunde Pflanzen**, Heidelberg, v. 75, n. 6, p. 2797-2809, 2023.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.

FERROL, N.; AZCÓN-AGUILAR, C.; PÉREZ-TIENDA, J. Arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: An overview on the mechanisms involved. **Plant Science**, Shannon, v. 280, p. 441-447, 2019.

FRANCHINI, J. C.; CRISPINO, C. C.; SOUZA, R. A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 92, n. 1-2, p. 18-29, 2007.

GARG, S. K.; BHATNAGAR, A.; KALLA, A.; Narula, N. In vitro nitrogen fixation, phosphate solubilization, survival and nutrient release by *Azotobacter* strains in an aquatic system. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 80, n. 2, p. 101-109, 2001.

GATIBONI, L. C.; CONDRON, L. M. A rapid fractionation method for assessing key soil phosphorus parameters in agroecosystems. **Geoderma**, Amsterdam, v. 385, p. 114893, 2021.

GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications, **Scientifica**, New York, v. 2012, 963401, 2012.

GU, S.; WU, S.; GUAN, Y.; ZHAI, C.; ZHANG, Z.; BELLO, A.; GUO, X.; YANG, W. Arbuscular mycorrhizal fungal community was affected by tillage practices rather than residue management in black soil of northeast China. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, 198, 104552, 2020.

HAGEN, C. E.; HOPKINS, H. T. Ionic Species in Orthophosphate Absorption by Barley Roots. **Plant Physiology**, Rockville, v. 30, n. 3, 193-199, 1955.

HOLÁTKO, J.; BRTNICKÝ, M.; KUČERÍK, J.; KOTIANOVÁ, M.; ELBL, J.; KINTL, A.; KYNICKÝ, J.; BENADA, O.; DATTA, R.; JANSÁ, J. Glomalin—Truths, myths, and the future of this elusive soil glycoprotein. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 153, 108116, 2021.

HU, J.; LIN, X.; WANG, J.; DAI, J.; CHEN, R.; ZHANG, J.; WONG, M. H. Microbial functional diversity, metabolic quotient, and invertase activity of a sandy loam soil as affected by long-term application of organic amendment and mineral fertilizer. **Journal of Soils and Sediments**, Heidelberg, v. 11, p. 271-280, 2011.

- JANES-BASSETT, V.; BLACKWELL, M. S.; BLAIR, G.; DAVIES, J.; HAYGARTH, P. M.; MEZELI, M. M.; STEWART, G. A meta-analysis of phosphatase activity in agricultural settings in response to phosphorus deficiency. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 165, 108537, 2022.
- JAVOT, H.; PUMPLIN, N.; HARRISON, M. J. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Transport properties and regulatory roles. **Plant, Cell & Environment**, Chichester, v. 30, p. 310-322, 2006.
- JIANG, F.; ZHANG, L.; ZHOU, J.; GEORGE, T. S.; FENG, G. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance mineralisation of organic phosphorus by carrying bacteria along their extraradical hyphae. **New Phytologist**, Chichester, v. 230, p. 304-315, 2021.
- KALAYU, G. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, London, v. 2019, 4917256, 2019.
- KARLEN, D. L.; MAUSBACH, M. J.; DORAN, J. W.; CLINE, R. G.; HARRIS, R. F.; SCHUMAN, G. E. Soil quality: A concept, definition, and framework for evaluation. **Soil Science Society of America Journal**, Hoboken, v. 61, p. 4-10, 1997.
- KERTESZ, M. A.; LEISINGER, T.; COOK, A. M. Proteins induced by sulfate limitation in *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, or *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**, Washington, v. 175, n. 4, 1187-1190, 1993.
- KNIGHTS, J. S.; ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P.; MAGAN, N. Long-term effects of land use and fertiliser treatments on sulphur transformations in soils from the Broadbalk experiment. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 12-13, p. 1797-1804, 2001.
- KOBAE, Y. Dynamic Phosphate Uptake in Arbuscular Mycorrhizal Roots Under Field Conditions. **Frontiers in environmental Science**, Lausanne, v. 6, 159, 2019.
- KOIDE, R. T.; KABIR, Z. Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. **New Phytologist**, Chichester, v. 148, p. 511-517, 2000.
- KUCEY, R. M. N. Phosphate-Solubilizing Bacteria and Fungi in Various Cultivated and Virgin Alberta Soils. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 63, p. 671-678, 1983.
- KUMAR, S.; CHAUDHURI, S.; MAITI, S. K. Soil dehydrogenase enzyme activity in natural and mine soil-a review. **Middle-East Journal of Scientific Research**, Dubai, v. 13, n. 7, p. 898-906, 2013.
- KUMAR, V.; BEHL, R. K.; NARULA, N. Establishment of phosphate-solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* in the rhizosphere and their effect on wheat cultivars under green house conditions. **Microbiological research**, Muenchen, v. 156, n. 1, p. 87-93, 2001.
- KURASAWA, T.; YACHI, M.; SUTO, M.; KAMAGATA, Y.; TAKAO, S.; TOMITA, F. Induction of cellulase by gentiobiose and its sulfur-containing analog in *Penicillium purpurogenum*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 58, n. 1, p. 106-110, 1992.

LEIFHEIT, E. F.; VERESOGLOU, S. D.; LEHMANN, A.; MORRIS, E. K.; RILLIG, M. C. Multiple factors influence the role of arbuscular mycorrhizal fungi in soil aggregation - a meta-analysis. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 374, p. 523-537, 2014.

LERMEN, C.; CRUZ, R. M. S.; SOUZA, J. S.; MARCHI, B. A.; ALBERTON, O. Growth of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi with different levels of humic substances and phosphorus in the soil. **Journal of applied research on medicinal and aromatic plants**, Amsterdam, v. 7, p. 48-53, 2017.

LI, Y.; CHANG, S. X.; TIAN, L.; ZHANG, Q. Conservation agriculture practices increase soil microbial biomass carbon and nitrogen in agricultural soils: A global meta-analysis. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 121, p. 50-58, 2018.

LI, J.; WANG, J.; LIU, H.; MACDONALD, C. A.; SINGH, B. K. Application of microbial inoculants significantly enhances crop productivity: a meta-analysis of studies from 2010 to 2020. **Journal of Sustainable Agriculture and Environment**, Hoboken, v. 1, n. 3, p. 216-225, 2022.

LIANG, J.; LIU, J.; JIA, P.; YANG, T.; ZENG, Q.; ZHANG, S.; LIAO, B.; SHU, W.; LI, J. Novel phosphate-solubilizing bacteria enhance soil phosphorus cycling following ecological restoration of land degraded by mining. **The ISME Journal**, Oxford, v. 14, p. 1600-1613, 2020.

LIU, Y.; BAI, S. H.; WANG, D.; ZHANG, L.; HU, D.; WEN, J.; ZHANG, W.; ZHANG, M. Relationships among phosphatase activities, functional genes and soil properties following amendment with the bacterium *Burkholderia* sp. ZP-4. **Land Degradation & Development**, Oxford, v. 33, n. 17, p. 3427-3437, 2022.

MARGALEF, O.; SARDANS, J.; FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, M.; MOLOWNY-HORAS, R.; JANSSENS, I. A.; CIAIS, P.; GOLL, D.; RICHTER, A.; OBERSTAINER, M.; ASENSIO, D.; PEÑUELAS, J. Global patterns of phosphatase activity in natural soils. **Scientific Reports**, London, v. 7, n. 1, 2017.

MARTINEZ, C.; TABATABAI, M. Decomposition of biotechnology by-products in soils. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 26, p. 625-632, 1997.

MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JÚNIOR, F. B.; KAPPES, C.; ONO, F. B.; SEMLER, T. D.; ZANCANARO, L.; LOPES, A. A. C. Qualidade biológica do solo: por que e como avaliar. **Boletim de Pesquisa da Fundação MT**, Cuiabá, v. 1, p. 98-105, 2017.

MENEZES-BLACKBURN, D.; GILES, C.; DARCH, T.; GEORGE, T. S.; BLACKWELL, M.; STUTTER, M.; SHAND, C.; LUMSDON, D.; COOPER, P.; WENDLER, R.; BROWN, L.; ALMEIDA, D. S.; WEARING, C.; ZHANG, H.; HAYGARTH, P. M. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review. **Plant Soil**, Prague, v. 427, p. 5-16, 2018.

MEYER, E.; STOFFEL, S. C. G.; ALMEIDA, A. F. N.; SCARSANELLA, J. A.; VIEIRA, A. S.; VENTURA, B. S.; CANEI, A. D.; BORTOLINI, J. G.; FARIA, S. M.; SOARES, C. R. F. S.; LOVATO, P. E. *Rhizophagus intraradices* and *Azospirillum brasilense* improve growth of herbaceous plants and soil biological activity in revegetation of a recovering coal-mining area. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 55, p. 2827-2837, 2024.

MOITINHO, M. R.; FERNANDES, C.; TRUBER, P. V.; MARCELO, A. V.; CORÁ, J. E.; BICALHO, E. S. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil aggregation in a no-tillage system with crop rotation. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 183, n. 4, p. 482-491, 2020.

MOREL, C.; TIESSEN, H.; STEWART, J. W. B. Correction for P-sorption in the measurement of soil microbial biomass P by CHCl_3 fumigation. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 1699-1706, 1996.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica chimica acta**, Amsterdam, v. 27, p. 31-36, 1962.

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

NEEMISHA; SHARMA, S. Soil Enzymes and Their Role in Nutrient Cycling. In: GIRI, B.; KAPOOR, R.; WU, Q. S.; VARMA, A. (ed.). **Structure and Functions of Pedosphere**. Singapore: Springer, 2022. p. 173-188.

NOSRATI, R.; OWLIA, P.; SADERI, H.; RASOOLI, I.; MALBOOBI, M. A. Phosphate solubilization characteristics of efficient nitrogen fixing soil *Azotobacter* strains. **Iranian journal of microbiology**, Tehran, v. 6, n. 4, 285, 2014.

NOVAIS, C. B.; BORGES, W. L.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SBRANA, C.; GIOVANNETTI, M.; SIQUEIRA, J. O. **Técnicas básicas em micorrizas arbusculares**. Lavras: Ed. da UFLA, 2017.

OLANREWAJU, O. S.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 33, 197, 2017.

OLSEN, S. R.; SOMMERS, L. E. Phosphorus. In: PAGE, A. L. (ed.) **Methods of soil analysis**. Part 2. 2. ed. Madison: Soil Science Society of America Inc., 1982. p. 403-430.

ORDOÑEZ, Y. M.; FERNANDEZ, B. R.; LARA, L. S.; RODRIGUEZ, A.; URIBE-VÉLEZ, D.; SANDERS, I. R. Bacteria with phosphate solubilizing capacity alter mycorrhizal fungal growth both inside and outside the root and in the presence of native microbial communities. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, e0154438, 2016.

PANG, F.; LI, Q.; SOLANKI, M. K.; WANG, Z.; XING, Y. X.; DONG, D. F. Soil phosphorus transformation and plant uptake driven by phosphate-solubilizing microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 15, 1383813, 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**, Dordrecht, v. 40, n. 2, 77, 2024.

PEDRINHO, A.; MENDES, L. W.; BARROS, F. M. R.; BOSSOLANI, J. W.; KÜHN, T. N.; QUECINE, M. C.; ANDREOTE, F. D. The interplay between *Azospirillum brasilense* and the native bacterial communities in the soil and rhizosphere of maize (*Zea mays* L.). **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 189, 109292, 2024.

PEIXOTO, R. S.; CHAER, G. M.; FRANCO, N.; REIS JÚNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; ROSADO, A. S. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 98, p. 403-413, 2010.

PERRIG, D.; BOIERO, M. L.; MASCIARELLI, O. A.; PENNA, C.; RUIZ, O. A.; CASSÁN, F. D.; LUNA, M. V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. **Applied microbiology and biotechnology**, Heidelberg, v. 75, p. 1143-1150, 2007.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 15. ed. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (Fealq), 2022. 451 p.

RAIESI, F.; GHOLLARATA, M. Interactions between phosphorus availability and an AM fungus (*Glomus intraradices*) and their effects on soil microbial respiration, biomass and enzyme activities in a calcareous soil. **Pedobiologia**, Muenchen, v. 50, n. 5, p. 413-425, 2006.

RAWAT, P.; DAS, S.; SHANKHDHAR, D.; SHANKHDHAR, S. C. Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Heidelberg, v. 21, p. 49-68, 2021.

RAYMOND, N. S.; GÓMEZ-MUÑOZ, B.; BOM, F. J.; NYBROE, O.; JENSEN, L. S.; MÜLLER-STÖVER, D. S.; OBERSON, A.; RICHARDSON, A. E. Phosphate-solubilising microorganisms for improved crop productivity: a critical assessment. **New Phytologist**, Chichester, v. 229, n. 3, p. 1268-1277, 2021.

RIBEIRO, N. V. S.; VIDAL, M. S.; BARRIOS, S. C. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Genetic diversity and growth promoting characteristics of diazotrophic bacteria isolated from 20 genotypes of *Brachiaria* spp. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 451, p. 187-205, 2020.

RICHARDSON, C. W.; BUCKS, D. A.; SADLER, E. J. The Conservation Effects Assessment Project benchmark watersheds: Synthesis of preliminary findings. **Journal of Soil and Water Conservation**, Philadelphia, v. 63, p. 590-604, 2008.

RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R.; GONZALEZ, T.; BASHAN, Y. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. **Plant Soil**, Prague, v. 287, p. 15-21, 2006.

RODRIGUEZ, H.; GONZALEZ, T.; GOIRE, I.; BASHAN, Y. Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. **Naturwissenschaften**, Heidelberg, v. 91, p. 552-555, 2004.

SAKAMOTO, K.; OBA, Y. Effect of fungal to bacterial biomass ratio on the relationship between CO₂ evolution and total soil microbial biomass. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 17, p. 39-44, 1994.

SALOHEIMO, M.; KUJA-PANULA, J.; YLÖSMÄKI, E.; WARD, M.; PENTTILÄ, M. Enzymatic properties and intracellular localization of the novel *Trichoderma reesei* beta-glucosidase BGLII (Cel1A). **Applied and environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 9, p. 4546-4553, 2002.

SAMMAURIA, R.; KUMAWAT, S.; KUMAWAT, P.; SINGH, J.; JATWA, T. K. Microbial inoculants: potential tool for sustainability of agricultural production systems. **Archives of Microbiology**, Heidelberg, v. 202, p. 677-693, 2020.

SANTOS, H. L. **Solubilização de fósforo em cana-de-açúcar submetida a *Bacillus velezensis* UFV 3918 e diferentes doses de fosfato monoamônico**. Orientador: Marcelo de Almeida Silva. 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2023.

SATO, T.; HACHIYA, S.; INAMURA, N.; EZAWA, T.; CHENG, W.; TAWARAYA, K. Secretion of acid phosphatase from extraradical hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus clarus* is regulated in response to phosphate availability. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 29, p. 599-605, 2019.

SCHMIDT, G.; LASKOWSKI, M. Phosphate ester cleavage (Survey). In: BOYER, P.D. (ed.). **The Enzymes**, 2. ed., New York: Academic Press, 1961. p. 3-35.

SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. Determinação da respiração basal e quociente metabólico do solo (qCO₂). **Embrapa Agroecologia, Seropédica, Comunicado Técnico**, v. 99, 2007.

SILVA-FLORES, P.; BUENO, C. G.; NEIRA, J.; PALFNER, G. Factors affecting arbuscular mycorrhizal fungi spore density in the Chilean Mediterranean-type ecosystem. **Journal of soil science and plant nutrition**, Heidelberg, v. 19, p. 42-50, 2019.

SINGHANIA, R. R.; PATEL, A. K.; SUKUMARAN, R. K.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Role and significance of beta-glucosidases in the hydrolysis of cellulose for bioethanol production. **Bioresource technology**, Amsterdam, v. 127, n. 1, p. 500-507, 2013.

SLEZACK-DESCHAUMES, S.; PIUTTI, S.; VONG, P. C.; BENIZRI, E. Dynamics of cultivable arylsulfatase-producing bacterial and fungal communities along the phenology of field-grown rape. **European journal of soil biology**, Issy les Moulineaux Cedex, v. 48, p. 66-72, 2012.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3. ed. Londres: Academic press, 2008.

SPARLING, G. P.; WEST, A. W. A direct extraction method to estimate soil microbial- C - calibration in situ using microbial respiration and ¹⁴C-labeled cells. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 337-343, 1988.

SPIERTZ, H. Challenges for crop production research in improving land use, productivity and sustainability. **Sustainability**, New Rochelle, v. 5, n. 4, p. 1632-1644, 2013.

STOTT, D. E.; ANDREWS, S. S.; LIEBIG, M. A.; WIENHOLD, B. J.; KARLEN, D. L. Evaluation of β -Glucosidase Activity as a Soil Quality Indicator for the Soil Management Assessment Framework. **Soil Science Society of America Journal**, Hoboken, v. 74, p. 107-119, 2010.

STRESSLER, T.; SEITL, I.; KUHN, A.; FISCHER, L. Detection, production, and application of microbial arylsulfatases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 100, p. 9053-9067, 2016.

SUN, Y.; CHENG, Y.; LI, H.; LIU, X.; ZHANG, Y.; REN, X.; WU, D.; WANG, F. Organic phosphorus levels change the hyphosphere phoD-harboring bacterial community of *Funneliformis mosseae*. **Mycorrhiza**, Heidelberg, v. 34, p. 131-143, 2024.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P. J. (eds.) **Methods of soil analysis: microbiological and biochemical properties**. Madison: Soil Sci. Soc. Am., v. 2, 1994. p. 778-835.

TABATABAI, M. A.; BREMNER, J. M. Arylsulfatase activity of soils. **Soil Science Society of America Journal**, Hoboken, v. 34, p. 225-229, 1970.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fundamentos de Fisiologia Vegetal** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2021.

TAKTEK, S.; TRÉPANIER, M.; SERVIN, P. M.; ST-ARNAUD, M.; PICHÉ, Y.; FORTIN, J. A.; ANTOUN, H. Trapping of phosphate solubilizing bacteria on hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 90, 1-9, 2015.

TATE, K. R.; ROSS, D. J.; FELTHAM, C. W. A direct extraction method to estimate soil microbial - C - effects of experimental- variables and some different calibration procedures. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 329-335, 1988.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; VLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 1995.

TEIXEIRA, M. F. D. **Atributos Microbiológicos do Solo Inoculado com Solubilizadores de Fosfato no Cultivo do Milho com Residual de Fósforo**. Orientador: Meire Aparecida Silvestrini Cordeiro, 2023. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, 2023.

THIRKELL, T. J.; CHARTERS, M. D.; ELLIOTT, A. J.; SAIT, S. M.; FIELD, K. J. Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security. **Journal of Ecology**, Chichester, v. 105, n. 4, p. 921-929, 2017.

TOMÈ, E.; VENTURA, M.; FOLEGOT, S.; ZANOTELLI, D.; MONTAGNANI, L.; MIMMO, T.; TONON, G.; TAGLIAVINI, M.; SCANDELLARI, F. Mycorrhizal contribution to soil respiration in an apple orchard. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 101, p. 165-173, 2016.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.

VIJAYSRI, D.; VARMA, K. N.; KUMARI, H. K.; SRINIVAS, D. S.; ARAVINDHARAN, S.T.M.; SINGH, D.; SHUKLA, L.; KAVYA, T.; SINGH, S. K. Effects of Microbial Inoculants on Soil Nutrients and Microorganisms. *In*: KUMAR, A.; SHUKLA, L.; SINGH, J.; FERREIRA, L. F. R. (eds). **Microbes Based Approaches for the Management of Hazardous Contaminants**. 1 ed. Nova Jersey: Wiley, 2024. cap. 10, p. 162-170.

WANG, G.; GEORGE, T. S.; PAN, Q.; FENG, G.; ZHANG, L. Two isolates of *Rhizopagus irregularis* select different strategies for improving plants phosphorus uptake at moderate soil P availability. **Geoderma**, Amsterdam, v. 421, 115910, 2022b.

WANG, G.; JIN, Z.; GEORGE, T. S.; FENG, G.; ZHANG, L. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance plant phosphorus uptake through stimulating hyphosphere soil microbiome functional profiles for phosphorus turnover. **New Phytologist**, Chichester, v. 238, n. 6, p. 2578-2593, 2023.

WANG, W. J.; DALAL, R. C.; MOODY, P. W.; SMITH, C. J. Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content. **Soil biology and biochemistry**, Oxford, v. 35, n. 2, p. 273-284, 2003.

WANG, Z.; CHEN, Z.; LEITE, M. F.; XU, Z.; LIN, Q.; KOWALCHUK, G. A.; FU, X.; KURAMAE, E. E. Effects of probiotic consortia on plant metabolites are associated with soil indigenous microbiota and fertilization regimes. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 185, 115138, 2022a.

WITT, C.; GAUNT, J. L.; GALICIA, C. C.; OTTOW, J. C. G.; NEUE, H. U. A rapid chloroform-fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon and nitrogen in flooded rice soils. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 30, n. 5-6, p. 510-519, 2000.

WOLINSKÀ, A.; STĘPNIEWSKA, Z. Dehydrogenase activity in the soil environment. *In*: CANUTO, R. A. (ed.). **Dehydrogenases**. London: InTech Publishers, 2012. p. 183-210.

WU, F.; LI, Z.; LIN, Y.; ZHANG, L. Effects of *Funneliformis mossveae* on the utilization of organic phosphorus in *Camellia oleifera* Abel. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 67, n. 5, p. 349-357, 2021.

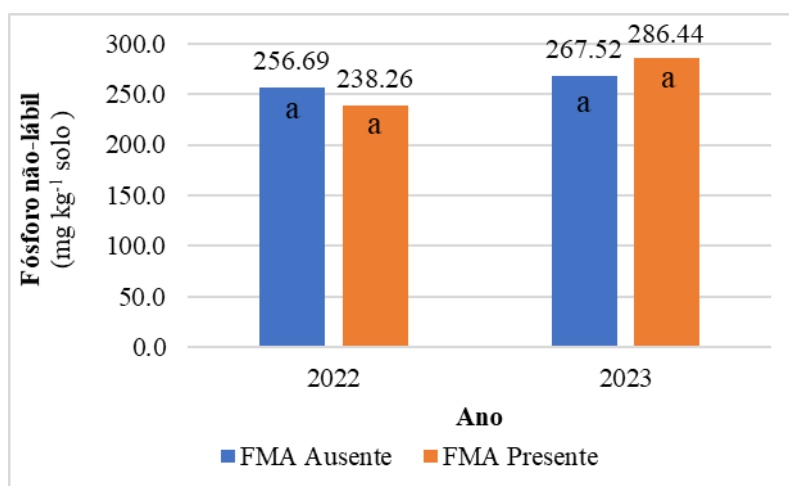
XUN, W.; HUANG, T.; ZHAO, J.; RAN, W.; WANG, B.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Environmental conditions rather than microbial inoculum composition determine the bacterial composition, microbial biomass and enzymatic activity of reconstructed soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 90, p. 10-18, 2015.

ZHANG, B.; LI, S.; CHEN, S.; REN, T.; YANG, Z.; ZHAO, H.; LIANG, Y.; HAN, X. Arbuscular mycorrhizal fungi regulate soil respiration and its response to precipitation change in a semiarid steppe. **Scientific Reports**, London, v. 6, 19990, 2016a.

ZHANG, L.; XU, M.; LIU, Y.; ZHANG, F.; HODGE, A.; FENG, G. Carbon and phosphorus exchange may enable cooperation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium. **New Phytologist**, Chichester, v. 210, p. 1022-1032, 2016b.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura S5.1 Desdobramento da interação entre a inoculação com *Rhizoglo-*mus clarum** (FMA) e os anos de experimento sobre a fração de fósforo não-lábil do solo após cultivo de milho e de feijão inoculados com bactérias promotoras de crescimento e *Rhizoglo-*mus clarum**



Médias seguidas pela mesma letra dentro de cada ano não diferem entre si pelo teste F (5%).

Fonte: Dados do próprio autor.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para selecionar as melhores opções dentre as várias espécies de microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP) disponíveis em coleções brasileiras que foram testadas, o índice de superioridade proposto permitiu uma visão abrangente dos efeitos significativos de cada tratamento sobre cada parâmetro avaliado. Assim, os MPCP testados foram classificados, indicando que *Nitrospirillum amazonense*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Azomonas macrocytogenes* e *Bacillus aryabhattai* (cepa da UNICAMP) apresentaram índices de superioridade maiores que *Az. brasilense*, que os demais MPCP testados e que a testemunha não inoculada para promover conjuntamente o crescimento, nutrição (nitrogênio – N e fósforo – P) e aspectos fisiológicos (compostos nitrogenados e clorofilas) nas plantas de milho e feijão em condições de vaso.

O trabalho em campo realizado em área agrícola sob sistema plantio direto em fase inicial de implantação na região do Cerrado brasileiro demonstrou que cada inoculação das bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) selecionadas e cada coinoculação das mesmas com o fungo micorrízico arbuscular (FMA) *Rhizoglyphus clarum* apresentaram resultados diferentes no desenvolvimento, produtividade e nutrição do milho primeira safra e do feijão de inverno em sucessão de acordo com o microrganismo ou combinação realizada nas culturas. Porém, foi demonstrado que os resultados benéficos das inoculações em vasos não se generalizaram para as condições de campo.

Foi constatada a ocorrência nativa dos gêneros de BPCP e do FMA no solo da área experimental. Além disso, se observou que cada inoculação resultou em modificações particulares na comunidade microbiana recrutada pelas raízes, tanto do milho quanto do feijão, evidenciada pelo aparecimento de gêneros exclusivos de baixa frequência nas raízes de plantas inoculadas. Mesmo assim, não ocorreram modificações na diversidade da comunidade microbiana das raízes em função das inoculações realizadas.

Para a cultura do milho, a inoculação de *A. macrocytogenes*, *N. amazonense*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis* aumentaram o teor de zinco (Zn) nos grãos de milho. A inoculação do FMA *Rhizoglyphus clarum* aumentou o teor foliar de cobre (Cu) no milho, enquanto sua coinoculação com *B. aryabhattai* ou com *Az. brasilense* proporcionou maior diâmetro de colmo e de espiga de milho. Apesar de não influenciarem a produtividade da cultura, as inoculações das bactérias *A. macrocytogenes*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai*, *Bur. vietnamiensis* e *N. amazonense* resultaram em redução no componente de produção massa de cem grãos

de milho. Dessa forma, destaca-se como opção viável para o milho, a coinoculação de *Az. brasilense* com *R. clarum* para promover maior desenvolvimento vegetativo das plantas.

Na cultura do feijão de inverno em sucessão ao milho primeira safra, a inoculação de *Bur. vietnamiensis* aumentou dois componentes de produção: o número de vagens e de grãos por planta, além de elevar o acúmulo de Cu pelas plantas de feijão. Além disso, ocorreu maior acúmulo de N após se inocular as bactérias *Az. brasilense* e *Azot. beijerinckii*, enquanto a inoculação de *B. aryabhattai* aumentou a exportação de N e ferro (Fe) pelos grãos. Em contraste, houve redução no acúmulo de Zn em plantas de feijão inoculadas com *A. macrocytogenes* ou *Azot. beijerinckii*, cujo efeito negativo foi neutralizado ao coinocular as duas BPCP com o FMA *R. clarum*. As coinoculações de *Az. brasilense*, *Bur. vietnamiensis* e *B. aryabhattai* com o FMA foram sinérgicas para a nutrição das plantas, pois proporcionaram maior acúmulo de N e P na parte aérea do feijoeiro. Assim, as coinoculações de *Az. brasilense*, *Bur. vietnamiensis* e *B. aryabhattai* com *R. clarum* se destacaram como as de maiores benefícios para a cultura do feijão em sucessão ao milho primeira safra.

Especificamente para a cultura do feijão, as alterações na composição da comunidade microbiana das raízes em função das inoculações proporcionaram o surgimento de gêneros fixadores de N, nematófagos, entomopatogênicos e promotores de crescimento exclusivos nas raízes de plantas inoculadas.

Finalmente, constatou-se que as inoculações modificaram os indicadores biológicos do solo, mas que esse efeito é dependente da espécie microbiana inoculada e da combinação entre as BPCP e o FMA, juntamente com a condição ambiental do ano de cultivo. A inoculação sucessiva de *R. clarum* promoveu maior atividade biológica do solo, evidenciada pelo aumento na atividade da enzima desidrogenase no mesmo. A inoculação da bactéria *Az. brasilense* beneficiou a comunidade microbiana do solo ao resultar em maior carbono da biomassa microbiana e menor respiração basal do solo, indicando maior eficiência de uso de C pela biomassa. Por outro lado, as inoculações de *A. macrocytogenes* e *Azot. beijerinckii* reduziram a atividade da fosfatase ácida do solo, mas, ao serem combinadas com o FMA, esses efeitos foram neutralizados.

Para a dinâmica do P, pouca influência das inoculações foi verificada, sendo constatada variação apenas na fração de P lábil do solo com os tratamentos realizados. Essa fração de P foi maior nas parcelas inoculadas com *Azot. beijerinckii*, enquanto que nas parcelas inoculadas com *A. macrocytogenes*, *B. amyloliquefaciens*, *B. aryabhattai* e *Bur. vietnamiensis* ocorreu redução do P lábil.

Com base nesses resultados, conclui-se que a coinoculação de *Az. brasilense* com *R. clarum* é indicada como a melhor opção para um sistema agrícola de milho primeira safra e feijão de inverno em sucessão irrigados, sob sistema plantio direto na região do Cerrado brasileiro.

Além disso, percebe-se que, em áreas agrícolas, as condições ambientais influenciam os resultados das inoculações realizadas, sendo necessários estudos que permitam determinar quais condições mais influenciam no desempenho das espécies inoculadas, para que surjam recomendações de inoculação eficazes para aquela cultura naquela condição edafoclimática. Também é necessário verificar se as alterações causadas na comunidade microbiana das raízes permanecem durante todo o ciclo da cultura e como isso interfere no desenvolvimento, nutrição e produtividade da mesma. Por fim, trabalhos para entender a influência das inoculações sobre o solo ainda são necessários, especialmente para elucidar em quais condições os microrganismos solubilizadores de fosfato poderão alterar significativamente as frações de P do solo. Além disso, é importante quantificar o P que será disponibilizado para as plantas e avaliar se isso pode resultar em redução na necessidade de adubação fosfatada.

APÊNDICE B – IMAGENS DO EXPERIMENTO

Figura A2.1 Abertura dos sulcos e adubação antes da semeadura do primeiro cultivo de milho. Selvíria/MS, 19/12/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.2 Semeadura manual do primeiro ano de milho, após inoculações das sementes. Selvíria/MS, 20/12/2021



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.3 Aspecto geral das plantas de milho aos cinco dias após a emergência e antes do controle de plantas daninhas. Selvíria/MS, 04/01/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.4 Aspecto geral das plantas de milho aos onze dias após a emergência e após controle de plantas daninhas. Selvíria/MS, 10/01/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.5 Inoculação foliar em jato dirigido para a parte aérea da cultura. Selvíria/MS, 19/01/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.6 Florescimento pleno da cultura. Selvíria/MS, 15/02/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.7 Aspecto geral da cultura após o florescimento. Selvíria/MS, 15/03/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.8 Proteção das espigas da área útil de cada parcela para evitar danos por maritacas. Selvíria/MS, 24/03/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.9 Acompanhamento da maturação e umidade dos grãos para determinação do momento de colheita. Selvíria/MS, 31/03/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.10 Área experimental após colheita das bordaduras do primeiro cultivo de milho. Selvíria/MS, 24/04/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.11 Área experimental após manejo da palhada do primeiro cultivo de milho para posterior semeadura da cultura do feijão. Selvíria/MS, 03/05/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.12 Área experimental após abertura e adubação dos sulcos, demarcação das parcelas e semeadura do primeiro ciclo da cultura do feijão. Selvíria/MS, 05/05/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.13 Aspecto geral das plantas de feijão aos sete dias após a emergência e antes do controle de plantas daninhas. Selvíria/MS, 17/05/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.14 Aspecto geral das plantas de feijão aos trinta e dois dias após a emergência e após controle de plantas daninhas. Selvíria/MS, 11/06/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.15 Aspecto geral das plantas de feijão no início do florescimento da cultura. Selvíria/MS, 21/06/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.16 Desenvolvimento das vagens do feijão. Selvíria/MS, 14/07/2022



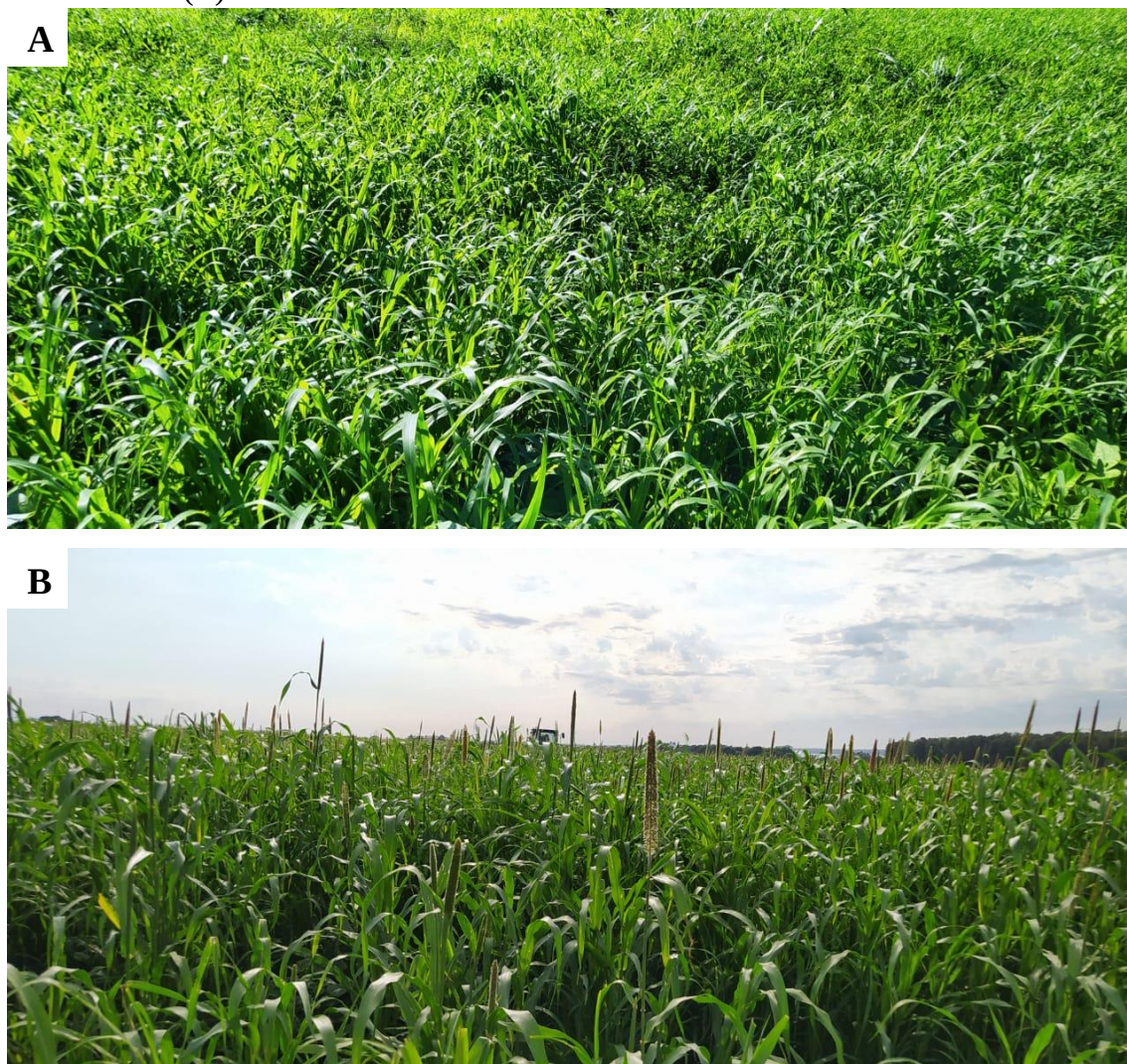
Fonte: O próprio autor.

Figura A2.17 Acompanhamento da maturação e umidade dos grãos para determinação do momento de colheita. Selvíria/MS, 19/07/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.18 Desenvolvimento do milheto como planta de cobertura na entressafra de 2022 (A) e no momento da dessecação para formação de palhada (B). Selvíria/MS, 25/10/2022 (A) e 09/11/2022 (B)



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.19 Aspecto geral das plantas de milho após a emergência Selvíria/MS, 24/11/2022



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.20 Aspecto geral da cultura aos vinte e oito (A) e aos setenta (B) dias após a emergência. Selvíria/MS, 21/12/2022 (A) e 01/02/2023 (B)



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.21 Acompanhamento da maturação e umidade dos grãos para determinação do momento de colheita. Selvíria/MS, 28/02/2023



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.22 Abertura e adubação dos sulcos para posterior demarcação das parcelas e semeadura do segundo ciclo da cultura do feijão. Selvíria/MS, 09/05/2023



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.23 Irrigação da área experimental após semeadura da cultura do feijão. Selvíria/MS, 10/05/2023



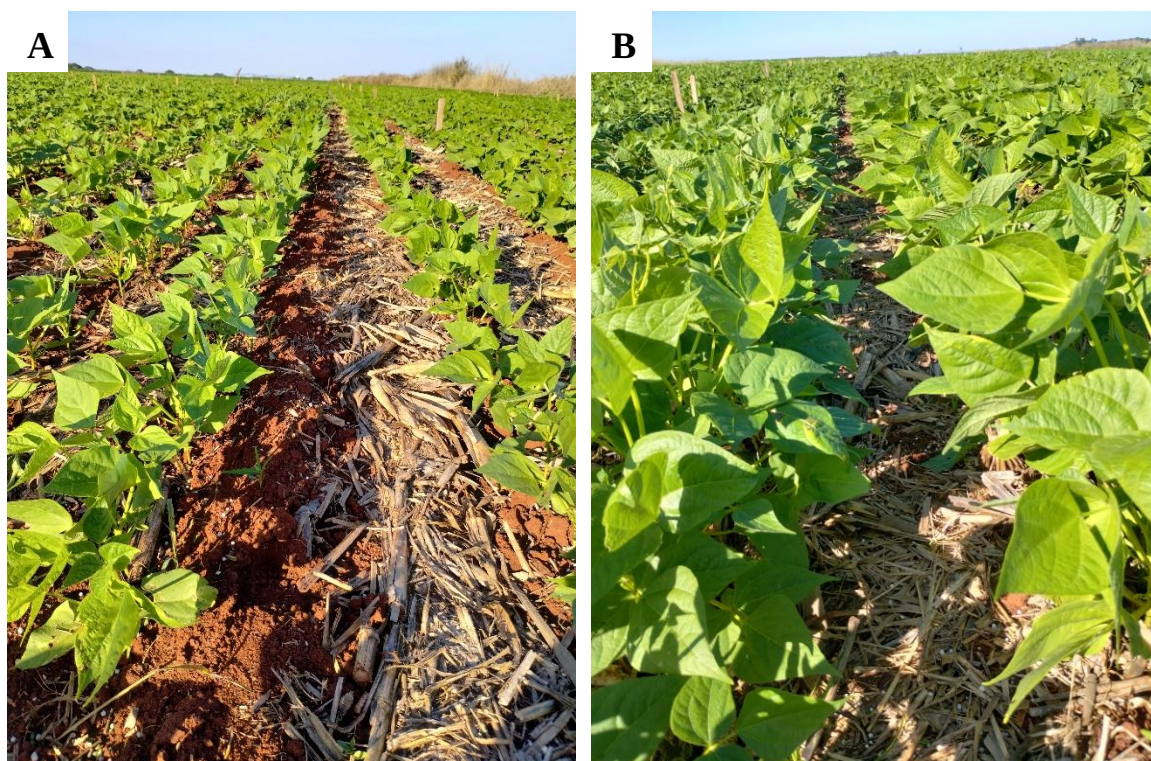
Fonte: O próprio autor.

Figura A2.24 Aspecto geral das plantas de feijão aos sete dias após a emergência. Selvíria/MS, 18/05/2023



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.25 Primeira (A) e segunda (B) parcela da adubação nitrogenada da cultura do feijão. Selvíria/MS, 06/06/2023 (A) e 18/06/2023 (B)



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.26 Aspecto geral das plantas de feijão aos trinta e nove dias após a emergência. Selvíria/MS, 26/06/2023



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.27 Acompanhamento do processo de enchimento e maturação dos grãos. Selvíria/MS, 25/07/2023



Fonte: O próprio autor.

Figura A2.28 Aspecto geral da cultura por ocasião da colheita dos grãos. Selvíria/MS, 11/08/2023



Fonte: O próprio autor.