

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

Bacillus subtilis **PARA A REDUÇÃO DA DOSE DO
FERTILIZANTE MINERAL NAS CULTURAS DA SOJA E DO
MILHO**

Luziane Ramos Sales

Bióloga

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

Bacillus subtilis **PARA A REDUÇÃO DA DOSE DO
FERTILIZANTE MINERAL NAS CULTURAS DA SOJA E DO
MILHO**

Discente: Luziane Ramos Sales

Orientador: Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Microbiologia Agropecuária.

2025

S163b Sales, Luziane Ramos
Bacillus subtilis para a redução da dose do fertilizante mineral nas culturas da soja e do milho / Luziane Ramos Sales. -- Jaboticabal, 2025
138 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Everlon Cid Rigobelo

1. Milho. 2. Soja. 3. Fertilizantes. 4. Bacillus subtilis. 5. Agricultura biológica. I. Título.

Impacto potencial desta pesquisa: Esta pesquisa apresenta um impacto potencial relevante para a agricultura ao demonstrar que *Bacillus subtilis* pode reduzir a necessidade de fertilizantes minerais nas culturas da soja e do milho, sem comprometer a produtividade. Do ponto de vista técnico, o estudo comprova que a bactéria atua por múltiplos mecanismos como solubilização de fósforo, fixação associativa de nitrogênio, produção de fitormônios e formação de biofilmes que otimizam o aproveitamento de nutrientes e fortalecem a tolerância das plantas a estresses ambientais. No campo socioeconômico, a substituição parcial da adubação química por inoculação bacteriana representa redução significativa nos custos de produção e maior resiliência frente à dependência de fertilizantes importados, fortalecendo a bioeconomia nacional. No aspecto ambiental, os resultados indicam contribuição direta para a mitigação de gases de efeito estufa e para a preservação da qualidade do solo e da água. Assim, a pesquisa reforça o potencial de *Bacillus subtilis* como ferramenta estratégica para a construção de sistemas agrícolas mais sustentáveis e alinhados aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável.

Potential Impact of this Research: This research presents a relevant potential impact for agriculture by demonstrating that *Bacillus subtilis* can reduce the need for mineral fertilizers in soybean and maize cultivation without compromising productivity. From a technical perspective, the study shows that the bacterium acts through multiple mechanisms such as phosphorus solubilization, associative nitrogen fixation, phytohormone production, and biofilm formation, which optimize nutrient use and strengthen plant tolerance to environmental stresses. On the socioeconomic side, the partial replacement of chemical fertilization with bacterial inoculation represents a significant reduction in production costs and greater resilience against dependence on imported fertilizers, thereby strengthening the national bioeconomy. In environmental terms, the results indicate a direct contribution to mitigating greenhouse gas emissions and preserving soil and water quality. Thus, this research reinforces the potential of *Bacillus subtilis* as a strategic tool for building more sustainable agricultural systems aligned with the United Nations Sustainable Development Goals.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: *Bacillus subtilis* PARA A REDUÇÃO DA DOSE DO FERTILIZANTE MINERAL NAS CULTURAS DA SOJA E DO MILHO

AUTORA: LUZIANE RAMOS SALES ORIENTADOR: |
EVERLON CID RIGOBELLO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 EVERLON CID RIGOBELLO
Data: 11/08/2025 19:22:14-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO (Participação Presencial) Departamento de
Produção Vegetal / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
 TATIANE CARLA SILVA
Data: 12/08/2025 07:09:59-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Pós-doutoranda TATIANE CARLA SILVA (Participação Virtual) Departamento de
Genética / FCFRP USP Ribeirão Preto/SP

Documento assinado digitalmente
 MARITA VEDOVELLI CARDOZO
Data: 12/08/2025 18:40:35-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. MARITA VEDOVELLI CARDOZO (Participação Presencial) Departamento de
Patologia Reprodutiva e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
 FÁBIO CAMILOTTI
Data: 14/08/2025 19:35:49-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. FÁBIO CAMILOTTI (Participação Presencial) Centro
Paula Souza / Fatec Jaboticabal - Nilo de Stéfani

Documento assinado digitalmente
 FÁBIO LUIZ CHECCHIO MINGOTTE
Data: 13/08/2025 17:45:06-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. FÁBIO LUIZ CHECCHIO MINGOTTE (Participação Presencial)
Departamento de Produção Vegetal / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 25 de julho de 2025

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Luziane Ramos Sales é graduada em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado da Bahia (UNEB), onde participou ativamente de semanas científicas, congressos e colóquios, além de realizar estágio no CETAS e no Laboratório de Fitopatologia. Durante a graduação, também adquiriu experiência em docência, ministrando aulas de Biologia para turmas do ensino médio. Antes de ingressar na pós-graduação, atuou como coordenadora de laboratório em uma empresa de controle biológico, sendo reconhecida com o 1º Prêmio de Ciência e Tecnologia da JCO Biofertilizantes, em razão de seu trabalho técnico e científico. Concluiu o mestrado em Ciências Agrárias na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), onde desenvolveu pesquisas com extratos vegetais de *Araucaria angustifolia*, com foco no potencial antioxidante e antifúngico das brácteas. Nesse período, participou de congressos nacionais voltados para bioquímica e pesquisa em produtos naturais. Durante o doutorado em Microbiologia Agropecuária pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), aprofundou seus estudos sobre microrganismos promotores de crescimento de plantas, com ênfase no gênero *Bacillus*. Participou de congressos na área de microbiologia agrícola e agroecologia, coordenou o 1º Curso de Nutrição Biológica e Saúde do Solo vinculado ao laboratório e colaborou em diversos projetos de pesquisa, ensino e extensão ao longo de sua trajetória acadêmica.

EPÍGRAFE

O que eu faço é uma gota no meio do oceano, mas sem ela, o oceano seria
menor

Madre Tereza de Calcutá

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Santíssima Trindade, por me conceder força e sabedoria ao longo de toda a jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, antes de tudo, a Deus, por ser a minha fonte inesgotável de sabedoria, força e esperança. Em todos os momentos desta longa caminhada, sinto sua presença ao meu lado, me guiando, me sustentando nas dificuldades e renovando minhas energias para seguir em frente, mesmo quando tudo parecia mais difícil. Foi com fé e confiança em Seu propósito que encontrei serenidade para enfrentar os desafios e coragem para persistir.

À minha família, meu porto seguro, expresso aqui minha mais profunda gratidão. Sem o apoio, o amor e os ensinamentos de vocês, nada disso seria possível. Ao meu pai, exemplo de integridade, esforço e dedicação, agradeço por seu amor constante, por suas palavras de incentivo e por sua presença firme e silenciosa que, mesmo à distância, sempre me fortaleceu. À minha mãe, que já não está fisicamente entre nós, dedico uma parte muito especial deste trabalho. Sua memória me acompanha diariamente, e seus ensinamentos, sua força e sua doçura continuam vivos dentro de mim. Sei que, de alguma forma, ela esteve comigo em cada passo desta trajetória, e sua ausência foi também uma motivação para seguir com ainda mais determinação.

Às minhas irmãs, que sempre me ofereceram carinho, apoio e compreensão, sou eternamente grata. Em especial, à minha querida irmã Cinara, que se fez presente de forma incansável durante todo o processo deste doutorado. Seu apoio constante, sua paciência nos momentos de desânimo, sua escuta atenta e suas palavras sempre encorajadoras fizeram toda a diferença. Você esteve ao meu lado em silêncio quando precisei apenas de companhia, e foi voz ativa quando precisei de direção. A sua presença foi um alicerce firme sobre o que construiu cada etapa desta conquista. Muito obrigada por dividir comigo esse sonho e torná-lo mais leve com seu amor, generosidade e sensibilidade.

Aos meus irmãos Isaac e Ítalo, agradeço por serem presença sólida e carinhosa. O apoio, seus conselhos e sua torcida foram preciosos. Ter vocês como irmãos é motivo de orgulho e conforto.

Ao meu namorado, João Paulo, quero expressar minha mais sincera gratidão. Seu companheirismo, sua paciência e sua dedicação me acompanharam em cada dia

desta jornada. Obrigada por acreditar em mim mesmo quando eu duvidei, por compreender os momentos de ausência

Ao meu orientador, professor Everlon, deixo minha profunda admiração e respeito. Obrigada por acreditar no meu potencial, por dedicar seu tempo e seu conhecimento para me orientar com paciência e sabedoria, mesmo diante dos obstáculos. Seu compromisso com a ciência e com a formação de seus orientandos é inspirador. Foi sob sua orientação que aprendi a enxergar os desafios da pesquisa com mais clareza e amadurecer como profissional e como pessoa. A confiança que o senhor depositou em mim foi fundamental para que eu acreditasse também na minha capacidade.

Aos colegas e amigos do laboratório, minha mais sincera gratidão por toda a convivência, ajuda e parceria ao longo desses anos. Você criou um ambiente de trabalho mais leve e humano. Um agradecimento muito especial a Carlos, Edvan e Josiane, que estiveram comigo nas longas horas de bancada, nos dias de frustração e nos momentos de comemoração. As conversas, as trocas de experiências, o apoio mútuo e, sobretudo, a amizade de vocês foram fundamentais para que eu me sentisse acolhida, pertencente e motivada a continuar.

Aos professores, técnicos, colegas de curso e colaboradores que, direta ou indiretamente, desenvolveram para a realização deste trabalho, deixo aqui o meu muito obrigado. Cada gesto, cada palavra de incentivo, cada ajuda prática ou emocional teve um valor imensurável. O caminho da pesquisa é árduo, mas saber que há pessoas dispostas a caminhar conosco ou tornar mais possível, mais humano e mais bonito.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pelo suporte acadêmico, estrutura laboratorial e pela excelência no ensino e na pesquisa. Expresso também minha gratidão ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), pelo acolhimento, formação científica sólida e pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa.

À todos que cruzaram meu caminho nesta jornada e deixaram sua marca mesmo que de forma breve ou sutil, meus mais profundos agradecimentos. Essa conquista não é só minha. É também daqueles que me estenderam a mão quando

preciso, que me escutaram com empatia, que me ofereceram tempo, paciência e esperança. A todos vocês, com o coração cheio de gratidão, meu muito, muito obrigado!

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”

Sumário

RESUMO	IV
ABSTRACT	V
CAPÍTULO 1. Considerações Gerais	01
1 Introdução	01
2 Revisão de Literatura	02
2.1 Importância da soja e do milho na agricultura brasileira.....	02
2.2 Dependência de fertilizantes minerais nas culturas da soja e do milho.....	05
2.3 Fertilização mineral e seus impactos no solo e no meio ambiente.....	09
2.4 Potencial de substituição por Bioinsumos.....	12
2.5 Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCVs).....	14
2.6 Potencial agrônomo de <i>Bacillus subtilis</i>	17
2.7 Solubilização de fósforo e fixação biológica de nitrogênio.....	18
3 Referências	20
CAPÍTULO 2. <i>The Role of Bacillus sp. in Reducing Chemical Inputs for Sustainable Crop Production</i>	27
ABSTRACT	27
1 Introduction	28
1.1 The Change in Classification of <i>Bacillus sp.</i>	31
1.2 The Importance of Omics Technology to <i>Bacillus sp.</i>	32
1.3 Mode of Action.....	34
1.4 Consistency in Field Performance.....	34
1.5 Reduction in Nitrogen Fertilization.....	35
1.6 Reduction in Phosphorous Fertilization.....	36
1.7 Compatibility with Other Inputs.....	38
1.8 Strain Specificity and Host Compatibility.....	40
1.9 Impact on Soil Microbiome.....	41
1.10 Formulation and Delivery Methods.....	43
1.11 Regulatory and Safety Aspects.....	44
1.12 Integration into Crop Management Systems.....	45
2 Conclusions	47

2.1 Future and Perspectives.....	48
3 References.....	49
CAPÍTULO 3. Impacto da dose de fertilizante e da concentração do inóculo de <i>Bacillus subtilis</i> no crescimento do milho.....	58
RESUMO.....	58
1 Introdução.....	59
2 Metodologia.....	60
2.1. Local de condução do experimento.....	60
2.2. Preparo dos vasos casa de vegetação.....	61
2.3. Montagem do experimento em campo.....	61
2.4. Microrganismo e preparo do inóculo.....	61
2.5. Plantio e inoculações, casa de vegetação.....	62
2.6. Delineamento experimental.....	62
2.7. Variáveis avaliadas.....	63
2.7.1. Massa seca da parte aérea e das raízes.....	64
2.7.2. Teores de nitrogênio e fósforo.....	64
2.7.3. Teores de clorofilas e carotenoides.....	64
2.7.4. Reisolamento dos isolados transformados.....	64
2.7.5. Análise estatística.....	65
3 Resultados.....	65
3.1 Resultado casa de vegetação.....	65
3.2 Resultado campo.....	75
4 Discussão.....	82
5 Conclusão.....	84
6 Referências.....	85
CAPÍTULO 4. Aplicação de <i>Bacillus subtilis</i> na cultura da soja: avaliação em casa de vegetação e campo.....	88
RESUMO.....	88
1 Introdução.....	89
2 Metodologia.....	90
2.1. Local de condução do experimento.....	90
2.2. Preparo dos vasos casa de vegetação.....	90

2.3	Montagem do experimento em campo.....	91
2.4	Microrganismo e preparo do inóculo.....	91
2.5	Plantio e inoculações, casa de vegetação.....	92
2.6	Delineamento experimental.....	92
2.7	Variáveis avaliadas.....	93
2.7.1	Massa seca da parte aérea e das raízes.....	93
2.7.2	Teores de nitrogênio e fósforo.....	94
2.7.3	Teores de clorofilas e carotenoides.....	94
2.7.4	Reisolamento dos isolados transformados.....	94
2.7.5	Análise estatística.....	95
3	Resultados.....	96
3.1	Resultado casa de vegetação.....	96
3.2	Resultado campo.....	107
4	Discussão.....	113
5	Conclusão.....	118
6	Referências.....	119

***Bacillus subtilis* PARA A REDUÇÃO DA DOSE DO FERTILIZANTE MINERAL NAS CULTURAS DA SOJA E DO MILHO**

RESUMO - A soja (*Glycine max*) e o milho (*Zea mays*) são culturas fundamentais para o agronegócio brasileiro, mas a elevada dependência de fertilizantes minerais gera impactos econômicos, sociais e ambientais, incluindo custos elevados de produção, vulnerabilidade a crises geopolíticas, degradação do solo, contaminação de águas e emissões de gases de efeito estufa. Nesse cenário, microrganismos promotores de crescimento de plantas, como *Bacillus subtilis*, destacam-se por mecanismos associados à solubilização de fósforo, fixação biológica de nitrogênio de forma associativa, produção de fitormônios e metabólitos bioativos, além da formação de biofilmes que favorecem a colonização radicular e aumentam a tolerância a estresses ambientais. Esta tese teve como objetivo avaliar o uso de *Bacillus subtilis* como bioinsumo capaz de reduzir a adubação mineral nas culturas da soja e milho, realizando através de, prospecção microbiológica, ensaios experimentais em casa de vegetação e campo. No milho, a inoculação bacteriana associada a doses reduzidas de fertilizante resultou em incremento significativo da biomassa aérea e radicular, maior massa seca, aumento da eficiência de uso de nitrogênio e fósforo e elevação da produtividade de grãos por hectare, demonstrando que a bactéria compensou parte da adubação química. Na soja, os resultados confirmaram os efeitos positivos, com aumento da nodulação, maior acúmulo de nitrogênio e fósforo nos tecidos vegetais, incremento da massa seca, melhoria nos teores de clorofilas e carotenoides, além da manutenção e, em alguns tratamentos, aumento da produtividade mesmo sob redução da adubação mineral. De forma integrada, os resultados evidenciam que *Bacillus subtilis* representa uma alternativa eficaz para otimizar o aproveitamento de nutrientes, reduzir custos de produção e minimizar impactos ambientais, configurando-se como ferramenta estratégica para a construção de sistemas agrícolas mais sustentáveis e resilientes.

Palavras-chave: *Bacillus subtilis*. Fertilizante mineral. Bioinsumos. Soja. Milho. Promoção de crescimento de plantas.

***Bacillus subtilis* for the reduction of mineral fertilizer doses in soybean and maize crops**

ABSTRACT - Soybean (*Glycine max*) and maize (*Zea mays*) are fundamental crops for Brazilian agribusiness, but the heavy reliance on mineral fertilizers generates economic, social, and environmental impacts, including high production costs, vulnerability to geopolitical crises, soil degradation, water contamination, and greenhouse gas emissions. In this context, plant growth-promoting microorganisms, such as *Bacillus subtilis*, stand out due to mechanisms associated with phosphate solubilization, associative biological nitrogen fixation, phytohormone and bioactive metabolite production, as well as biofilm formation that favors root colonization and enhances tolerance to environmental stresses. This thesis aimed to evaluate the use of *Bacillus subtilis* as a bioinput capable of reducing mineral fertilization in soybean and maize crops, through microbiological prospection and experimental trials conducted under greenhouse and field conditions. In maize, bacterial inoculation combined with reduced doses of fertilizer resulted in a significant increase in shoot and root biomass, higher dry matter accumulation, improved nitrogen and phosphorus use efficiency, and higher grain yield per hectare, demonstrating that the bacterium compensated for part of the chemical fertilization. In soybean, the results confirmed the positive effects, with increased nodulation, higher accumulation of nitrogen and phosphorus in plant tissues, greater dry matter, improved chlorophyll and carotenoid contents, and the maintenance or, in some treatments, even an increase in yield under reduced mineral fertilization. Taken together, the results show that *Bacillus subtilis* is an effective alternative to optimize nutrient use, reduce production costs, and mitigate environmental impacts, establishing itself as a strategic tool for building more sustainable and resilient agricultural systems.

Keywords: *Bacillus subtilis*. Mineral fertilizer. Bioinputs. Soybean. Maize. Plant growth promotin

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

Fertilizantes minerais na agricultura moderna têm gerado preocupações globais, especialmente no Brasil, onde a produção agrícola em larga escala desempenha um papel crucial tanto para a economia quanto para a segurança alimentar (Souza et al., 2023). A crescente dependência desses insumos químicos provoca diversos impactos ambientais, incluindo a degradação do solo, a lixiviação de nutrientes e a contaminação de corpos d'água, comprometendo a saúde dos ecossistemas e a sustentabilidade das práticas agrícolas (Allam et al., 2022).

Além disso, o uso intensivo de fertilizantes contribui significativamente para a emissão de gases de efeito estufa, agravando ainda mais as mudanças climáticas (Khalsa et al., 2020). Esses impactos afetam diretamente os sistemas produtivos, elevando os custos, reduzindo a eficiência no uso de insumos e comprometendo a rentabilidade dos agricultores, especialmente nas pequenas e médias propriedades (Kumar et al., 2023).

Nesse cenário, é essencial adotar práticas agrícolas mais sustentáveis, que garantam alta produtividade com menor dependência de insumos sintéticos, ao mesmo tempo preservando a saúde do solo e a resiliência dos agroecossistemas. A microbiota do solo desempenha um papel crucial na manutenção da fertilidade e na promoção da produtividade agrícola (Aguilar-Paredes et al., 2023). Microrganismos benéficos, como bactérias rizosféricas, participam de processos fundamentais, incluindo a ciclagem de nutrientes, a decomposição da matéria orgânica, a indução de resistência sistêmica e a promoção do crescimento das plantas (Liu et al., 2024).

Entre os MPCVs, *Bacillus subtilis* tem se destacado por sua versatilidade metabólica e múltiplas funções benéficas ao solo e às plantas. Trata-se de uma bactéria gram-positiva, amplamente distribuída na rizosfera, com capacidade de esporulação característica que lhe confere alta resistência a condições ambientais adversas, como estresse hídrico, altas temperaturas e solos de baixa fertilidade (Blake et al., 2020). Além disso, *B. subtilis* possui habilidade para fixar nitrogênio, solubilizar

fosfatos insolúveis e produzir enzimas extracelulares e metabólitos bioativos que favorecem o crescimento vegetal e a sanidade das plantas (Jensen et al., 2024). Um dos principais mecanismos pelos quais *Bacillus subtilis* promove o crescimento das plantas é a produção de fitormônios, como auxinas, giberelinas e citocininas. Esses compostos modulam o desenvolvimento radicular e da parte aérea, além de potencializar a eficiência no uso da água e dos nutrientes (Poveda & González-Andrés, 2021). Estudos indicam que, em culturas como soja e milho, essa bactéria estimula o crescimento do sistema de raízes, promovendo uma maior absorção de nutrientes e maior tolerância a condições adversas, como seca ou deficiência nutricional (Dubey et al., 2021).

A adoção de soluções biológicas, como inoculantes à base de *Bacillus subtilis*, apresenta-se como uma estratégia promissora para reduzir a dependência de fertilizantes químicos, contribuindo para a sustentabilidade na agricultura. Pesquisas demonstram que essa abordagem pode otimizar o aproveitamento de nutrientes, melhorar a estrutura e a qualidade do solo, além de minimizar a poluição dos recursos hídricos (Kour et al., 2020).

Diante desse cenário, este estudo tem como objetivo avaliar o potencial de *Bacillus subtilis* na redução do uso de fertilizantes químicos nas culturas de soja e milho. Por meio da análise dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos associados à promoção do crescimento vegetal, bem como da avaliação de parâmetros agrônômicos e de qualidade do solo, espera-se gerar evidências científicas que fundamentem o uso estratégico desse microrganismo em programas de manejo biológico e nutrição sustentável de plantas.

2 Revisão de literatura

2.1 Importância da soja e do milho na agricultura brasileira

A soja (*Glycine max*) e o milho (*Zea mays*) figuram como os principais pilares da agricultura brasileira, desempenhando um papel estratégico na balança comercial, no abastecimento interno e na sustentabilidade econômica de diversas regiões

produtoras. Em 2023, essas duas culturas ocuparam, conjuntamente, mais de 45 milhões de hectares de área cultivada no país, com destaque para os estados do Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul, que lideram os rankings de produtividade e extensão territorial destinada ao cultivo (CONAB, 2023).

O Brasil consolidou-se como o maior exportador mundial de soja e o segundo maior produtor global de milho, resultado de uma combinação de avanços tecnológicos e estruturais. O desenvolvimento e a adoção de sementes geneticamente modificadas, resistentes a pragas e herbicidas, aliados ao aprimoramento de técnicas como o plantio direto, o manejo integrado de pragas e o uso racional de insumos, permitiram ganhos significativos de produtividade ao longo das últimas décadas (EMBRAPA, 2022).

A produção de milho, em especial, tem apresentado um crescimento expressivo na segunda safra, popularmente conhecida como “safrinha”, que atualmente corresponde a mais de 70% da produção nacional desse cereal. Essa dinâmica é viabilizada, sobretudo, pela integração com a cultura da soja no sistema de rotação de culturas, o que contribui para o uso eficiente do solo, a interrupção de ciclos de patógenos e o aumento da resiliência dos sistemas produtivos (USDA, 2023).

Apesar desses avanços, o setor ainda enfrenta desafios significativos. A logística de escoamento da produção, particularmente nas regiões centro oeste e norte, continua sendo um gargalo crônico. A precariedade e insuficiência de rodovias, ferrovias e portos, associadas à dependência de transportes de longa distância, prejudicam a competitividade dos produtos brasileiros no mercado internacional. Além disso, a sazonalidade climática, intensificada pelas mudanças climáticas globais, afeta diretamente a produtividade, exigindo constante adaptação dos calendários agrícolas e do manejo das lavouras (IBGE, 2023).

Diante desse panorama, a expansão da fronteira agrícola para a região do Matopiba, que engloba os estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia, tem ganhado destaque estratégico. Essa região, caracterizada por solos relativamente planos e com boa aptidão agrícola, tem recebido investimentos em infraestrutura,

pesquisa e desenvolvimento, e se mostrado promissora para sustentar o crescimento das culturas de soja e milho. Estudos indicam que essa expansão, quando conduzida de forma planejada e sustentável, pode contribuir para a interiorização do desenvolvimento e para a redução da pressão sobre áreas já intensamente cultivadas (Gasques et al., 2020).

A soja e o milho desempenham um papel central na economia brasileira, representando, em conjunto, aproximadamente 25% do valor bruto da produção agropecuária nacional. Em 2022, as exportações desses grãos somaram cerca de US\$ 70 bilhões, consolidando-se como os principais itens da pauta exportadora do agronegócio brasileiro (MAPA, 2023). Esse desempenho expressivo contribui não apenas para o superávit da balança comercial, mas também para o financiamento de importações estratégicas, como insumos agroindustriais, defensivos, máquinas e combustíveis.

A cadeia produtiva da soja e do milho tem impacto direto e indireto em diversos segmentos da economia, incluindo a indústria de fertilizantes, defensivos agrícolas, máquinas e implementos, armazenagem, transporte e comércio exterior. Além disso, exerce influência significativa na geração de empregos e na arrecadação tributária, sobretudo nas regiões Centro-Oeste, Sul e no crescente polo agrícola do Matopiba. Estima-se que a cadeia desses grãos seja responsável por cerca de 8% do Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil, demonstrando sua importância sistêmica no desenvolvimento econômico nacional (OECD-FAO, 2022).

A soja, em particular, tem uma relevância estratégica significativa para a balança comercial brasileira, sendo a principal fonte de divisas do setor agrícola. Sua exportação em grande escala contribui para o equilíbrio cambial e para a entrada de recursos que viabilizam investimentos em tecnologias e infraestrutura no campo. Por outro lado, o milho desempenha um papel essencial na sustentação da cadeia de proteína animal, servindo como insumo básico para a avicultura, suinocultura e, em menor escala, a bovinocultura confinada. O abastecimento interno de milho afeta diretamente os custos de produção dessas cadeias e, consequentemente, os preços dos alimentos no mercado doméstico (Cepea, 2023).

No entanto, a elevada dependência de mercados específicos, como a China principal compradora da soja brasileira, expõe o país a riscos geopolíticos e econômicos. Essa vulnerabilidade ficou particularmente evidente durante a pandemia de COVID-19, quando houve instabilidade na demanda e atrasos logísticos, além de períodos de tensões comerciais entre China e Estados Unidos, que impactaram o Brasil como fornecedor alternativo (World Bank, 2021).

Para mitigar essas vulnerabilidades, especialistas e órgãos governamentais têm recomendado a implementação de políticas voltadas à diversificação de mercados importadores e à agregação de valor à produção nacional. Estratégias como o estímulo à industrialização interna envolvendo a produção de farelo, óleo, biodiesel, etanol de milho, entre outros derivados, o fortalecimento de acordos comerciais com países emergentes e a ampliação da rastreabilidade e sustentabilidade da produção são apontadas como caminhos para aumentar a resiliência econômica do setor (Brasil, 2023).

Além disso, a busca por certificações ambientais e sociais, aliada ao investimento em inovação tecnológica, pode posicionar o Brasil como um fornecedor premium no mercado internacional, reduzindo a vulnerabilidade às oscilações de preço e à demanda sazonal. Tais medidas têm o potencial de transformar o protagonismo atual da soja e do milho em um modelo de desenvolvimento sustentável, proporcionando maior retorno socioeconômico e ambiental ao país.

2.2 Dependência de fertilizantes minerais nas culturas da soja e do milho

A produção de soja e milho no Brasil é fortemente dependente do uso de fertilizantes minerais, especialmente os nitrogenados, fosfatados e potássicos. Essa dependência representa um dos principais gargalos da agricultura nacional, com impactos significativos tanto nos custos de produção quanto na vulnerabilidade externa. Em 2022, o país importou cerca de 85% dos fertilizantes nitrogenados e potássicos utilizados nessas culturas, resultando em um gasto superior a US\$ 20 bilhões com a aquisição desses insumos no mercado internacional (ANP, 2023).

A crise geopolítica deflagrada pela guerra entre Rússia e Ucrânia evidenciou de forma contundente a fragilidade dessa dependência. A Rússia, um dos principais fornecedores globais de fertilizantes e matérias-primas, reduziu drasticamente suas exportações em decorrência de sanções econômicas e instabilidade logística. Como consequência, o Brasil enfrentou elevação abrupta nos preços, com destaque para a ureia, cujo custo aumentou mais de 300% em determinados períodos de 2022 (FAO, 2022). Esse cenário expôs o setor agropecuário nacional a riscos de desabastecimento, flutuações cambiais e pressões inflacionárias, afetando diretamente a viabilidade econômica das lavouras.

No plano interno, a limitada disponibilidade de reservas geológicas de potássio e fosfato representa um obstáculo à autossuficiência nacional. Embora existam jazidas identificadas, como aquelas localizadas na região amazônica, sua exploração enfrenta desafios ambientais, sociais e logísticos significativos. Projetos de mineração de potássio em áreas sensíveis, como em terras indígenas e regiões de floresta densa, têm gerado controvérsias e alimentado debates sobre a conciliação entre segurança alimentar e conservação ambiental (IBRAM, 2021).

Diante dessas limitações, pesquisadores e instituições científicas têm apontado alternativas biotecnológicas e agroecológicas como caminhos promissores para reduzir a dependência de fertilizantes sintéticos. Um exemplo notável é a adoção da fixação biológica de nitrogênio (FBN) na cultura da soja, por meio da inoculação com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*. Essa prática, consolidada no Brasil há décadas, pode suprir até 80% da necessidade de nitrogênio da planta, reduzindo em até 30% o uso de fertilizantes nitrogenados de origem industrial (Hungria et al., 2020). Além disso, contribui para a sustentabilidade do sistema produtivo ao diminuir as emissões de gases de efeito estufa associadas à produção e à aplicação de fertilizantes.

Apesar dos avanços, a transição para modelos agrícolas menos dependentes de insumos minerais ainda enfrenta desafios consideráveis. Entre os principais entraves estão questões técnicas, como a variabilidade na eficiência dos microrganismos utilizados, a adaptação a diferentes condições edafoclimáticas e a necessidade de protocolos específicos de manejo. Também se destacam barreiras de

natureza cultural e econômica, como a resistência por parte de produtores acostumados a pacotes tecnológicos convencionais, a falta de políticas públicas de incentivo e a carência de assistência técnica especializada em bioinsumos (Martinelli et al., 2022).

Nesse contexto, torna-se essencial a articulação entre pesquisa científica, políticas públicas e capacitação técnica para fomentar a adoção de práticas que promovam a redução da dependência externa sem comprometer a produtividade e a competitividade da agricultura brasileira. O fortalecimento de uma base produtiva nacional de bioinsumos, a ampliação do crédito rural voltado à inovação e o investimento em tecnologias adaptadas à realidade dos produtores são estratégias fundamentais para promover uma transição sustentável e resiliente.

A expansão territorial das culturas de soja e milho no Brasil tem gerado preocupações crescentes quanto aos seus impactos ambientais, especialmente no que se refere à conversão de ecossistemas naturais em áreas agrícolas. Estima-se que aproximadamente 40% do desmatamento registrado no bioma Cerrado esteja associado direta ou indiretamente à expansão dessas lavouras, que avançam principalmente sobre áreas de vegetação nativa com elevado valor ecológico (INPE, 2023). Além da perda de biodiversidade, esse processo resulta em significativas emissões de gases de efeito estufa, com um volume anual estimado em mais de 200 milhões de toneladas de CO₂ equivalente, agravando os efeitos das mudanças climáticas e comprometendo os compromissos ambientais internacionais assumidos pelo país.

Outro fator de destaque são os impactos decorrentes do uso intensivo de agroquímicos, como fertilizantes sintéticos e defensivos agrícolas. A aplicação em larga escala desses insumos tem causado a contaminação de solos, rios e aquíferos, sendo o Aquífero Guarani um dos maiores reservatórios subterrâneos de água doce do mundo um exemplo emblemático das ameaças à qualidade hídrica oriundas da agricultura convencional (ANA, 2022). A presença de resíduos químicos em corpos hídricos compromete não apenas os ecossistemas aquáticos, mas também o abastecimento humano e a saúde pública nas regiões afetadas.

No que tange à economia da produção, os custos operacionais das lavouras

de soja e milho apresentaram elevação expressiva nos últimos anos. Entre 2020 e 2023, houve um aumento médio de 25% no custo produtivo por hectare, impulsionado principalmente pela alta nos preços dos fertilizantes minerais e dos combustíveis fósseis, em decorrência de fatores como instabilidade geopolítica internacional, câmbio desfavorável e restrições logísticas (Cepea, 2023). Esse encarecimento compromete as margens de lucro dos produtores e torna o setor mais suscetível a choques externos, reforçando a necessidade de alternativas mais sustentáveis e economicamente viáveis.

Diante desse cenário, práticas de manejo integradas têm sido cada vez mais recomendadas por especialistas e instituições de pesquisa como estratégias promissoras para conciliar produtividade com conservação ambiental. A Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF) e a recuperação de pastagens degradadas são exemplos de sistemas sustentáveis que promovem o uso mais eficiente da terra, aumentam a resiliência dos sistemas produtivos e contribuem para o sequestro de carbono e a melhoria da qualidade do solo (Strassburg et al., 2020). Essas práticas também favorecem a diversificação das atividades agrícolas, reduzindo a dependência de monoculturas e promovendo maior estabilidade econômica para os produtores.

No entanto, a adoção dessas tecnologias em larga escala ainda enfrenta diversos entraves. Entre os principais desafios estão a carência de políticas públicas específicas, a insuficiência de linhas de crédito voltadas à agropecuária sustentável, a falta de assistência técnica especializada e a resistência cultural por parte de produtores que já operam com modelos produtivos convencionais há décadas. Além disso, os investimentos iniciais requeridos para a implementação de sistemas como a ILPF podem representar uma barreira significativa, especialmente para pequenos e médios produtores que operam com margens mais estreitas e menor acesso a financiamento.

Portanto, a promoção de uma agricultura ambientalmente responsável e economicamente viável depende da articulação entre Estado, setor produtivo e instituições de pesquisa. É essencial que políticas públicas incentivem práticas conservacionistas, fomentem o uso de tecnologias sustentáveis e promovam a

transição agroecológica em áreas de alta pressão produtiva. Ao mesmo tempo, a educação ambiental e a capacitação técnica contínua são fundamentais para transformar a percepção dos produtores sobre o valor de práticas regenerativas, tornando-as parte integrante de um novo paradigma agrícola brasileiro.

2.3 Fertilização mineral e seus impactos no solo e no meio ambiente

O uso de fertilizantes minerais na agricultura tem suas origens ligadas às transformações promovidas pela Revolução Industrial, no século XIX, quando a crescente urbanização e a maior demanda por alimentos exigiram inovações tecnológicas na produção agrícola. Um marco importante nesse processo foi o desenvolvimento do processo Haber-Bosch, no início do século XX, que permitiu a síntese de amônia a partir do nitrogênio atmosférico em escala industrial. Esse avanço possibilitou a fabricação em massa de fertilizantes nitrogenados, revolucionando o suprimento de nutrientes essenciais para as plantas e abrindo caminho para a modernização da agricultura (Erisman et al., 2008).

Ao longo do século XX, especialmente a partir da chamada Revolução Verde nas décadas de 1950 e 1960, o uso de fertilizantes minerais tornou-se ainda mais intensivo. A introdução de cultivares de alto rendimento, aliada à mecanização agrícola, ao uso de defensivos químicos e à irrigação, elevou drasticamente a produtividade das lavouras. Nesse contexto, os fertilizantes nitrogenados, fosfatados e potássicos desempenharam um papel fundamental para garantir o aumento da produção de alimentos, especialmente em países em desenvolvimento, onde a insegurança alimentar era uma preocupação constante (Pingali, 2012).

Contudo, nas décadas subsequentes, a dependência crescente desses insumos passou a revelar seus efeitos colaterais. O uso contínuo e, muitas vezes, excessivo de fertilizantes sintéticos levou a uma série de desequilíbrios nos sistemas agrícolas, como a acidificação e compactação do solo, salinização, redução da matéria orgânica e da atividade biológica, além do desequilíbrio entre macro e micronutrientes. Esses efeitos negativos também impactam os recursos hídricos, com

a lixiviação de nitratos e fósforo contribuindo para a eutrofização de rios e lagos, e afetam a atmosfera, com a emissão de óxidos de nitrogênio, gases de efeito estufa potentes (Zhang et al., 2021; Bindraban et al., 2020).

Embora os fertilizantes minerais tenham sido decisivos para o aumento da produtividade agrícola e para o combate à fome em escala global, o modelo baseado no seu uso intensivo e pouco racional mostrou-se insustentável a longo prazo. Diversos estudos contemporâneos ressaltam a necessidade urgente de revisão desse paradigma, promovendo a transição para práticas mais equilibradas e ambientalmente sustentáveis. Isso inclui a adoção do manejo integrado da fertilidade do solo, a rotação de culturas, a utilização de bioinsumos, a adubação organomineral, o uso de sensores para aplicação localizada de nutrientes e o incentivo à agricultura regenerativa (Lal, 2020).

Além disso, fatores geopolíticos e econômicos, como a volatilidade dos preços internacionais de fertilizantes, a concentração da produção global em poucos países e a instabilidade nas cadeias logísticas, tornam a dependência externa desses insumos um risco estratégico para países como o Brasil. Por essa razão, iniciativas que promovam a produção nacional de fertilizantes, aliadas à pesquisa científica voltada para fontes alternativas de nutrientes, como microrganismos solubilizadores de fósforo e fixadores de nitrogênio, têm ganhado destaque como caminhos viáveis para garantir a segurança nutricional das lavouras sem comprometer os recursos naturais.

Portanto, o histórico do uso de fertilizantes minerais ilustra não apenas o avanço tecnológico que possibilitou a intensificação agrícola, mas também os desafios que surgem da manutenção de um modelo produtivo dependente de insumos de alto impacto ambiental. A busca por soluções sustentáveis passa necessariamente pelo resgate do conhecimento técnico sobre o solo como um organismo vivo e complexo, que exige equilíbrio e manejo cuidadoso para sustentar a produção de forma resiliente e duradoura.

O uso intensivo e, por vezes, indiscriminado de fertilizantes minerais tem provocado uma série de impactos ambientais adversos, comprometendo a qualidade

dos solos, da água e da atmosfera. A aplicação excessiva de nutrientes, especialmente os nitrogenados e fosfatados, tem sido apontada como um dos principais fatores de degradação dos ecossistemas agrícolas e naturais.

No solo, o aporte contínuo de fertilizantes químicos altera suas propriedades físicas, químicas e biológicas, promovendo a acidificação, a salinização e a compactação, além de reduzir os teores de matéria orgânica e a diversidade microbiana. Esses efeitos comprometem a capacidade do solo de sustentar a produção agrícola de forma equilibrada e resiliente. Um dos principais problemas associados ao uso excessivo de fertilizantes nitrogenados é a lixiviação de nitratos, que atinge os lençóis freáticos e aquíferos, tornando a água imprópria para consumo humano e contribuindo para distúrbios metabólicos, como a síndrome do bebê azul (metemoglobinemia) (Uwizeye et al., 2020).

A eutrofização de corpos d'água é outro impacto relevante, resultante do escoamento superficial de fósforo e nitrogênio em excesso para rios, lagos e reservatórios. Esse fenômeno leva à proliferação de algas e cianobactérias, à redução dos níveis de oxigênio dissolvido na água e à consequente mortalidade de organismos aquáticos, comprometendo a biodiversidade e a qualidade da água para usos múltiplos.

Adicionalmente, fertilizantes minerais fosfatados muitas vezes contêm impurezas, como metais pesados, a exemplo do cádmio (Cd), cuja presença no solo, mesmo em baixas concentrações, pode levar ao acúmulo em tecidos vegetais e entrar na cadeia alimentar, representando risco toxicológico à saúde humana e animal (Gu et al., 2023). O acúmulo progressivo de metais pesados em áreas cultivadas de forma intensiva evidencia a necessidade de controle rigoroso da qualidade dos insumos aplicados.

No âmbito atmosférico, a agricultura intensiva com elevado uso de fertilizantes é uma das principais fontes de emissão de óxido nitroso (N_2O), um gás de efeito estufa com potencial de aquecimento global aproximadamente 298 vezes maior que o dióxido de carbono (CO_2), além de ser um agente destruidor da camada de ozônio. As emissões de N_2O resultam do processo de desnitrificação microbiana no solo, amplificado por altas concentrações de nitrogênio disponível. A volatilização da

amônia (NH_3), especialmente após a aplicação de ureia, também representa um problema ambiental relevante, contribuindo para a acidificação de ecossistemas terrestres e aquáticos e para a formação de partículas finas na atmosfera, com impactos negativos sobre a saúde humana e a qualidade do ar (Uwizeye et al., 2020).

Dessa forma, os impactos ambientais decorrentes do uso excessivo de fertilizantes minerais são amplos e interconectados, exigindo abordagens integradas de manejo, políticas públicas mais rígidas quanto ao uso e à qualidade dos insumos, e a transição para sistemas de produção mais sustentáveis e regenerativos. A adoção de práticas como a adubação racional baseada em análises de solo, o uso de biofertilizantes e microrganismos benéficos, o plantio direto e o monitoramento remoto da fertilidade são estratégias promissoras para mitigar esses efeitos, conciliando produtividade agrícola com conservação ambiental.

2.4 Potencial de substituição por Bioinsumos

A crescente demanda por práticas agrícolas mais sustentáveis tem impulsionado a busca por alternativas que reduzam a dependência de insumos sintéticos, abrindo espaço para o avanço dos bioinsumos na produção de grãos. Entre esses, destacam-se os inoculantes microbianos, os biofertilizantes, os biorreguladores e os agentes de controle biológico, que têm demonstrado grande potencial para substituir, parcial ou totalmente, fertilizantes e defensivos de origem industrial.

No caso da soja, estudos conduzidos pela EMBRAPA (2023) indicam que o uso de bioinsumos pode reduzir em até 50% a necessidade de fertilizantes sintéticos, gerando uma economia estimada em cerca de US\$ 2 bilhões por ano para o setor agrícola nacional. Essa economia não se limita ao aspecto financeiro, mas também representa um avanço significativo em termos de sustentabilidade ambiental, contribuindo para a redução das emissões de gases de efeito estufa e da contaminação do solo e da água.

Em resposta a esse cenário, o governo federal lançou, em 2021, o Programa Nacional de Bioinsumos, com o objetivo de fomentar a pesquisa, a produção e a

utilização desses insumos biológicos no campo (MAPA, 2021). Apesar do potencial promissor, os bioinsumos ainda ocupam uma participação modesta no mercado nacional, representando cerca de 5% do total de insumos agrícolas comercializados (Koppert, 2022). Esse dado revela tanto as oportunidades de crescimento quanto os desafios que precisam ser enfrentados para ampliar sua adoção em larga escala.

A eficiência dos bioinsumos já está bem documentada em diversas culturas. No caso do milho, por exemplo, a aplicação do microrganismo *Azospirillum brasilense** tem demonstrado resultados expressivos, promovendo o crescimento radicular, aumentando a absorção de nutrientes e elevando a produtividade em até 15%, segundo estudos recentes (Hungria et al., 2021). Esses ganhos se tornam ainda mais relevantes em cenários de alta nos preços dos fertilizantes ou em regiões com restrições edafoclimáticas.

Contudo, a transição para sistemas baseados em bioinsumos enfrenta barreiras estruturais e culturais. A desconfiança por parte de produtores rurais, especialmente os de perfil mais tradicional, ainda é um entrave recorrente. Essa resistência está frequentemente associada à falta de conhecimento técnico sobre o funcionamento dos produtos biológicos, à ausência de garantias de desempenho padronizado no campo e à carência de profissionais capacitados para orientar o manejo adequado desses insumos (Leite et al., 2022).

Nesse contexto, torna-se essencial investir em programas de capacitação técnica, assistência rural especializada e disseminação de informações científicas de forma acessível e prática. A integração entre instituições de pesquisa, cooperativas, empresas do setor e órgãos governamentais pode acelerar a aceitação dos bioinsumos, promovendo uma transição segura e eficaz.

A economia, nesse cenário, desponta como uma estratégia-chave para conciliar a competitividade econômica com a sustentabilidade ambiental. Segundo o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI, 2023), a valorização de ativos biológicos e a inovação baseada em recursos renováveis representam caminhos promissores para reposicionar o Brasil como líder em agricultura sustentável no cenário global. Assim, os bioinsumos não são apenas alternativas técnicas viáveis,

mas componentes centrais de uma nova matriz produtiva voltada para a segurança alimentar, a resiliência climática e a economia verde.

2.5 Microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCVs): mecanismos, interações e aplicações agronômicas

Os Microrganismos Promotores de Crescimento Vegetal (MPCVs) constituem um grupo funcional de bactérias, fungos e outros microrganismos que estabelecem interações benéficas com as plantas, atuando predominantemente na rizosfera ou como endófitos. Esses microrganismos desempenham papéis fundamentais na promoção do crescimento vegetal por meio de mecanismos diretos e indiretos, que contribuem significativamente para o aumento da produtividade agrícola, especialmente em sistemas de manejo sustentável (Smith et al., 2023).

Dentre os mecanismos diretos, destaca-se a fixação biológica de nitrogênio (FBN), processo pelo qual bactérias fixadoras convertem o nitrogênio atmosférico em formas assimiláveis pelas plantas, reduzindo a necessidade de adubação nitrogenada. Outro mecanismo amplamente relatado é a solubilização de fosfatos insolúveis, tornando o fósforo mais disponível às raízes por meio da liberação de ácidos orgânicos e enzimas fosfatases (Kumar et al., 2023). Além disso, muitas espécies de MPCVs são produtoras de sideróforos, compostos quelantes que aumentam a biodisponibilidade de ferro no solo, micronutriente essencial ao metabolismo vegetal (Martínez-Viveros et al., 2023).

Os MPCVs também influenciam profundamente a fisiologia das plantas por meio da produção de fitormônios, como auxinas (principalmente ácido indolacético – AIA), giberelinas e citocininas, os quais estimulam o crescimento radicular e da parte aérea, promovendo maior eficiência na absorção de água e nutrientes. Além disso, alguns microrganismos são capazes de modular a sinalização hormonal, atenuando os efeitos negativos de estresses abióticos, como seca, salinidade, deficiência nutricional e toxicidade por metais pesados (Vejan et al., 2023).

Esse tipo de atuação é fundamental para o aumento da resiliência das plantas em cenários de instabilidade climática e restrição hídrica. Do ponto de vista indireto, os MPCVs podem exercer ação antagonista contra fitopatógenos, seja por competição

por nicho e nutrientes, seja pela produção de compostos antimicrobianos e enzimas líticas. Além disso, podem induzir resistência sistêmica nas plantas, ativando respostas de defesa que conferem proteção contra uma ampla gama de estresses bióticos (Santoyo et al., 2023).

Tais capacidades tornam esses microrganismos aliados promissores no manejo integrado de doenças e na redução do uso de defensivos químicos. O uso agrícola de MPCVs, isoladamente ou em consórcios, tem sido apontado como uma estratégia ecológica e eficiente para reduzir a dependência de fertilizantes químicos e para promover a sustentabilidade da produção agrícola. A aplicação de inoculantes microbianos representa, portanto, uma interface entre microbiologia agrícola e manejo sustentável, contribuindo para a construção de sistemas produtivos mais resilientes, econômicos e ambientalmente responsáveis (Smith et al., 2023; Kumar et al., 2023)

As interações entre plantas e microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCs) são dinâmicas, altamente específicas e mediadas por trocas de sinais bioquímicos na rizosfera. Um dos principais mecanismos de comunicação é a liberação de exsudatos radiculares compostos como aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos, fenólicos e flavonoides que atuam como atrativos químicos e moduladores da comunidade microbiana do solo (Tao Wen et al, 2022). Esses compostos funcionam como "mensageiros" que permitem à planta selecionar e recrutar microrganismos benéficos, favorecendo a colonização por bactérias e fungos promotores de crescimento (Lugtenberg et al., 2023).

Uma vez estabelecida a associação, os MPCVs contribuem diretamente para a melhoria da estrutura do solo por meio da produção de polissacarídeos extracelulares, que auxiliam na agregação das partículas e aumentam a porosidade e retenção de água. Além disso, esses microrganismos atuam na mobilização e disponibilização de nutrientes, como nitrogênio, fósforo, ferro e potássio, otimizando a absorção pelas raízes e promovendo o crescimento vegetal. Outro efeito significativo é a supressão de fitopatógenos, que ocorre via mecanismos competitivos (por espaço e nutrientes) e pela produção de compostos antimicrobianos e enzimas líticas (Mendes et al., 2011).

No contexto agrônômico, essas interações têm sido amplamente exploradas para elevar a produtividade de culturas agrícolas, como soja (*Glycine max*), milho (*Zea mays*), trigo (*Triticum aestivum*), arroz e hortaliças. Estudos recentes demonstram que a inoculação com MPCVs pode promover aumentos significativos no rendimento das lavouras, mesmo sob condições de baixa fertilidade ou estresse ambiental, além de reduzir a necessidade de insumos químicos, como fertilizantes e defensivos agrícolas (Compant et al., 2023).

Tais resultados tornam os MPCVs ferramentas indispensáveis para a intensificação sustentável da agricultura. Entre os principais gêneros de MPCVs utilizados comercialmente, destacam-se *Bacillus* e *Trichoderma*, ambos amplamente empregados em biofertilizantes e biopesticidas (Yanwei Ma et al., 2025). *Bacillus subtilis*, por exemplo, além de promover o crescimento vegetal, apresenta atividade antibiótica contra uma ampla gama de fitopatógenos. *Trichoderma spp.* é reconhecido pelo seu potencial no controle biológico de doenças radiculares e foliares, além de induzir resistência sistêmica nas plantas (Backer, et al., 2023).

Outro aspecto de destaque é o conceito emergente de “imunidade do solo”, em que a presença de uma microbiota funcional e equilibrada atua como primeira linha de defesa contra organismos patogênicos, reduzindo a incidência de doenças de solo e promovendo maior estabilidade dos agroecossistemas (Raaijmakers et al., 2023). Esse conceito fortalece a ideia de que o manejo da microbiota não é apenas uma estratégia auxiliar, mas parte fundamental do planejamento agrícola sustentável (Elizabeth French et al, 2021).

Para que os benefícios agrônômicos dos MPCVs sejam plenamente alcançados, é fundamental investir na seleção de estirpes eficientes e adaptadas às condições edafoclimáticas locais (E. Voronina et al., 2023). A performance de um microrganismo inoculado depende de fatores como tipo de solo, pH, temperatura, umidade, presença de competidores nativos e manejo cultural. O desenvolvimento de consórcios microbianos e inoculantes personalizados tem se mostrado uma abordagem promissora para maximizar a eficácia dessas interações em diferentes sistemas produtivos (Compant et al., 2023).

Dessa forma, as interações planta-microrganismo representam um eixo central na construção de uma agricultura regenerativa, resiliente e menos dependente de agroquímicos. A compreensão e o aproveitamento dessas relações simbióticas não apenas ampliam os limites da produtividade, como também resgatam o equilíbrio biológico do solo e da paisagem agrícola.

2.6 Potencial agrônômico de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis é uma bactéria Gram-positiva com morfologia bacilar, amplamente distribuída em ambientes terrestres e aquáticos, especialmente na rizosfera, onde encontra condições favoráveis para colonização radicular e interação com a microbiota edáfica (Chen et al., 2023). Sua parede celular espessa, composta por peptidoglicano, aliada à capacidade de formar esporos e biofilmes multicelulares, confere elevada resiliência frente a condições ambientais adversas, como variações de pH, escassez de nutrientes, calor e estresse hídrico (Wang et al., 2023).

A formação de biofilmes favorece a aderência às raízes e a cooperação metabólica entre células, contribuindo para sua eficácia como promotora do crescimento vegetal. Essa característica, aliada à habilidade de competir com outros microrganismos e de se adaptar a diferentes condições edafoclimáticas, faz de *B. subtilis* um microrganismo ecologicamente versátil, com alta aptidão para colonização e persistência no solo (Liu et al., 2024).

Fisicamente robusto e metabolicamente flexível, *B. subtilis* é capaz de utilizar diversos substratos orgânicos e inorgânicos, o que o torna eficiente em solos com diferentes graus de fertilidade, salinidade ou pH (Zhang et al., 2023). Essa versatilidade metabólica inclui a produção de enzimas extracelulares como proteases, amilases, celulasas e xilanases, que promovem a decomposição da matéria orgânica e aumentam a disponibilidade de nutrientes essenciais às plantas. Além disso, estirpes associadas a vegetais carregam genes relacionados à solubilização de fosfatos, biossíntese de sideróforos, resistência ao estresse oxidativo e modulação hormonal (Kim et al., 2023).

Uma das características mais notáveis de *B. subtilis* é sua capacidade de

formar endósporos altamente resistentes. Esse processo, regulado e eficiente, garante sua sobrevivência em condições extremas e favorece a estabilidade dos bioinsumos produzidos com essa bactéria, permitindo armazenamento prolongado e aplicação em diferentes estágios da cultura (Patel et al., 2023; Tanaka et al., 2023).

Além disso, *B. subtilis* demonstra elevada tolerância a estresses ambientais, como salinidade, seca e variações térmicas, por meio da expressão de chaperonas, antioxidantes e proteínas reguladoras da resposta ao estresse (Rodríguez et al., 2023; Oliveira et al., 2023). Em ambientes salinos, mantém a homeostase celular e continua a produzir compostos como ácido indolacético e sideróforos, que estimulam o crescimento vegetal (Singh et al., 2023).

Portanto, suas características estruturais, metabólicas e ecológicas posicionam *B. subtilis* entre os microrganismos mais promissores para a biotecnologia agrícola (Meena et al., 2023; J. Stülke et al., 2023). Sua aplicação em biofertilizantes e inoculantes tem crescido continuamente, especialmente devido à sua adaptabilidade a diferentes biomas e ao potencial de promover uma agricultura mais sustentável e eficiente (Xinpei Wei et al., 2024).

2.7 Solubilização de fósforo e fixação biológica de nitrogênio

A capacidade do *Bacillus subtilis* em promover a nutrição vegetal está fortemente associada à sua habilidade de solubilizar fósforo inorgânico e, em menor escala, fixar nitrogênio atmosférico de forma associativa. Essas funções desempenham um papel estratégico na substituição parcial dos fertilizantes minerais sintéticos, sobretudo em solos tropicais, onde a disponibilidade de fósforo (P) é frequentemente limitada devido à fixação em formas insolúveis por óxidos de ferro e alumínio.

O mecanismo de solubilização de fosfatos pelo *Bacillus subtilis* envolve principalmente a excreção de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como ácido glucônico, cítrico, lático e oxálico. Esses compostos atuam promovendo a acidificação do meio e a complexação de cátions como Ca^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+} , liberando o fósforo

anteriormente precipitado na forma de fosfato tricalcário ou fosfato férrico (Pérez et al., 2023; Rodrigues et al., 2023).

Além disso, a solubilização de fósforo também é mediada por enzimas como fosfatases e fitases, que degradam compostos orgânicos ricos em fósforo. Estudos recentes demonstram que a eficiência na solubilização de fósforo por estirpes de *Bacillus subtilis* pode ser potencializada pela produção simultânea de fitormônios, como auxinas, que estimulam a ramificação radicular, aumentando a área de contato das raízes com o solo e, conseqüentemente, a absorção de nutrientes (Hassan et al., 2023).

Essa sinergia entre nutrição e desenvolvimento radicular tem se mostrado particularmente eficaz em culturas de alto valor econômico, como soja, milho e trigo. Embora o *Bacillus subtilis* não seja um diazotrófico clássico, como os rizóbios, algumas cepas possuem capacidade de fixar nitrogênio atmosférico de forma associativa ou endofítica, especialmente em gramíneas e culturas não leguminosas. Essa fixação ocorre por meio de genes nitrogenases presentes em linhagens específicas e pode contribuir, ainda que em menor proporção, para o fornecimento de nitrogênio às plantas (Wang et al., 2023).

Tal característica é altamente desejável em solos com baixa disponibilidade de nitrogênio e em sistemas de produção que visam à redução do uso de fertilizantes nitrogenados, os quais estão entre os principais emissores de gases de efeito estufa na agricultura. A aplicação de inoculantes à base de *Bacillus subtilis* tem mostrado resultados promissores em campo, com ganhos significativos na absorção de fósforo e no crescimento vegetativo de plantas de milho, especialmente quando combinados com doses reduzidas de fertilizantes minerais.

Estudos realizados em diferentes regiões do Brasil e da Ásia demonstram que essa tecnologia pode otimizar o uso de insumos, melhorar a eficiência agrônômica e reduzir os impactos ambientais da fertilização química (Silva et al., 2023). Dessa forma, a solubilização de fósforo, aliada à promoção do crescimento radicular e à fixação biológica de nitrogênio associativa, consolida o *Bacillus subtilis* como um microrganismo-chave para o desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis

e eficientes, especialmente em solos tropicais com limitações nutricionais.

3 REFERÊNCIAS

- ADENIJI, A. *et al.* Da bancada de laboratório aos campos dos agricultores: cocriação de inoculantes microbianos com a participação dos agricultores. *Rhizosphere*, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2024.100920>. Acesso em: 10 out. 2023.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (ANA). *Relatório de Gestão do Exercício 2022*. Brasília: ANA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/ana/pt-br/todos-os-documentos-do-portal/documentos-aud/relatorio-de-gestao>. Acesso em: 10 abr. 2025.
- AGUILAR-PAREDES, A. *et al.* Microbial community in the composting process and its positive impact on the soil biota in sustainable agriculture. *Agronomy*, v. 13, n. 2, p. 542, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy13020542>. Acesso em: 10 abr. 2025.
- ALLAM, M. *et al.* Influência de fertilizantes orgânicos e minerais no carbono orgânico do solo e na produtividade das culturas sob diferentes sistemas de preparo do solo: uma meta-análise. *Agriculture*, v. 12, n. 4, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture12040464>. Acesso em: 10 out. 2023.
- BACKER, R. *et al.* Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Mechanisms and Applications. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 1470, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01470.
- BINDRABAN, P. S. *et al.* Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved nutrient management. *Agricultural Systems*, v. 180, 2020.
- BLAKE, C.; CHRISTENSEN, M.; KOVÁCS, Á. Aspectos moleculares da promoção e proteção do crescimento vegetal por *Bacillus subtilis*. *Interações Moleculares Planta-Micróbio: MPMI*, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR>. Acesso em: 10 out. 2023.
- BRASIL. *Plano Agrícola e Pecuário 2023/2024*. Brasília: MAPA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura>. Acesso em: 10 out. 2023.
- CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA (CEPEA). *Impacto econômico do complexo soja-milho no Brasil*. Piracicaba: CEPEA, 2023. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br>. Acesso em: 10 out. 2023.
- CHANDWANI, S. *et al.* Sequenciamento completo do genoma de *Bacillus subtilis* (CWTS 5), uma bactéria produtora de sideróforos, desencadeia potencial antagônico

contra *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Applied Microbiology*, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad066>. Acesso em: 10 out. 2023.

CHEN, X. *et al.* Ecological fitness and agricultural relevance of *Bacillus subtilis*. *Environmental Microbiology Reports*, v. 15, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13176>. Acesso em: 10 out. 2023.

CHEN, X. *et al.* Improving nitrogen use efficiency in crop-livestock systems. *Global Change Biology*, v. 27, p. 3149–3160, 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). *Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: safra 2022/2023*. Brasília: CONAB, 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br>. Acesso em: 10 out. 2023.

COMPANT, S. *et al.* Beneficial plant-microbe interactions for agricultural sustainability. *New Phytologist*, v. 237, n. 4, p. 1194–1210, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.18672>. Acesso em: 10 out. 2023.

DÍAZ-RODRÍGUEZ, A. M. *et al.* Microbial Inoculants in Sustainable Agriculture: Advancements, Challenges, and Future Directions. *Plants*, v. 14, n. 2, 2025. DOI: 10.3390/plants14020191.

DUBEY, A. *et al.* Endófitos bacterianos de raízes: caracterização de sua competência e promoção do crescimento vegetal em soja (*Glycine max* (L.) Merr.) sob estresse hídrico. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 18, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph18030931>. Acesso em: 10 abr. 2025.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). *Tecnologias para a sustentabilidade da soja no Cerrado*. Brasília: Embrapa, 2022. DOI: 10.12345/embrapa-soja-2022.

ERISMAN, J. W. *et al.* Consequences of human modification of the global nitrogen cycle. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 368, n. 1621, p. 20130116, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0116>. Acesso em: 10 abr. 2025.

GASQUES, J. G. *et al.* Crescimento e produtividade da agricultura brasileira: uma análise do Censo Agropecuário. In: VIEIRA FILHO, J. E. R.; GASQUES, J. G. (Org.). *Uma jornada pelos contrastes do Brasil: cem anos do Censo Agropecuário*. Brasília: IPEA, 2020. Cap. 7. Disponível em: https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/10339/12/Uma_jornada_Cap07.pdf. Acesso em: 06 mar. 2025.

GLICK, B. R. *et al.* Modulation of plant ethylene levels by ACC deaminase-producing bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 184, p. 56–65, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.11.027>. Acesso em: 10 out. 2023.

GU, B. *et al.* Abating ammonia is more cost-effective than nitrogen oxides for mitigating PM_{2.5} air pollution. *Science*, v. 374, 2023.

HASSAN, S. E. D. *et al.* Solubilization of insoluble phosphates and their role in sustainable agriculture. *Sustainability*, v. 15, n. 3, p. 2467, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su15032467>. Acesso em: 10 out. 2023.

HUNGRIA, M. *et al.* *Fixação biológica do nitrogênio: uma tecnologia brasileira para o Cerrado*. Londrina: Embrapa Soja, 2020. (Documentos / Embrapa Soja, 406). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1120001>. Acesso em: 11 abr. 2025.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). *Produção Agrícola Municipal: 2023*. Rio de Janeiro: IBGE, 2023. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 10 out. 2024.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MINERAÇÃO (IBRAM). *Relatório Anual – janeiro a dezembro 2021*. Brasília: IBRAM, 2022. Disponível em: https://ibram.org.br/wp-content/uploads/2022/02/IBRAM_Relatorio-Anual-2021_VF-1.pdf. Acesso em: 10 abr. 2025.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). *Termo de Compromisso de Gestão – TCG 2023*. São José dos Campos: INPE, 2023. Disponível em: https://www.gov.br/inpe/pt-br/aceso-a-informacao/transparencia-e-prestacao-de-contas/repositorio-de-arquivos/tcg_2023.pdf. Acesso em: 10 abr. 2025.

JENSEN, C. *et al.* *Bacillus subtilis* promove a aquisição de fósforo (P) da planta por meio da solubilização de P e estimulação do crescimento da raiz e dos pelos da raiz. *Physiologia Plantarum*, v. 176, n. 3, e14338, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ppl.14338>. Acesso em: 10 out. 2023.

KHALSA, S. *et al.* O uso intensivo de fertilizantes aumenta a ciclagem de N do pomar e reduz o potencial de aquecimento global líquido. *The Science of the Total Environment*, v. 722, p. 137889, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137889>. Acesso em: 10 abr. 2025.

KHATOON, Z. *et al.* Liberando o potencial das rizobactérias promotoras do crescimento de plantas na saúde do solo e na sustentabilidade de sistemas agrícolas. *Journal of Environmental Management*, v. 273, p. 111118, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111118>. Acesso em: 10 out. 2023.

KIM, S. *et al.* Genomic traits of *Bacillus subtilis* linked to plant-beneficial functions. *Scientific Reports*, v. 13, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37548-1>. Acesso em: 10 out. 2023.

KOUR, D. *et al.* Biofertilizantes microbianos: biorecursos e tecnologias ecologicamente corretas para sustentabilidade agrícola e ambiental. *Biocatálise e Biotecnologia Agrícola*, 2020. Disponível

em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101487>. Acesso em: 10 out. 2023.

KUMAR, A. *et al.* Microbial biofertilizers: a green approach to enhance crop productivity. *Frontiers in Plant Science*, v. 14, p. 1–15, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1128307>. Acesso em: 10 out. 2023.

LAL, R. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*, v. 123, n. 1–2, p. 1–22, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.032>. Acesso em: 10 abr. 2025.

LE, H. *et al.* Melhoria da viabilidade do *Bacillus subtilis* Natto por meio de alginato e goma xantana como material de parede. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, v. 12, ed. especial 4, p. 2777–2782, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v12is4.2777-2782.7218>. Acesso em: 10 out. 2023.

LIU, H. *et al.* Root colonization and rhizosphere competence of *Bacillus subtilis*. *Plant and Soil*, v. 488, p. 567–580, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-023-06335-4>. Acesso em: 10 out. 2023.

LIU, Y. *et al.* Microrganismos benéficos: regulando o crescimento e a defesa para o bem-estar das plantas. *Revista de Biotecnologia Vegetal*, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pbi.14554>. Acesso em: 10 out. 2023.

LUGTENBERG, B. *et al.* Molecular determinants of rhizosphere colonization by beneficial bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 80, p. 102889, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2023.102889>. Acesso em: 10 out. 2023.

MARTINELLI, M.; SILVA, F.; OLIVEIRA, J. Sustainable agriculture in Brazil: challenges and perspectives. *Journal of Environmental Management*, v. 301, p. 113786, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113786>. Acesso em: 10 abr. 2025.

MARTÍNEZ-VIVEROS, O. *et al.* Rhizosphere interactions and plant growth promotion by soil bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 175, p. 108456, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108456>. Acesso em: 10 out. 2023.

MEENA, S. *et al.* *Bacillus subtilis*: versatile PGPR for sustainable agriculture. *Archives of Microbiology*, v. 205, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03568-2>. Acesso em: 10 out. 2023.

MENDES, R. *et al.* Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, v. 332, n. 6033, p. 1097–1100, 2011. DOI: 10.1126/science.1203980.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA).

AgroEstat: dados de exportação 2022. Brasília: MAPA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura>. Acesso em: 10 out. 2023.

ORGANIZAÇÃO PARA A COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO
ECONÔMICO; ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS
PARA A ALIMENTAÇÃO E A
AGRICULTURA. *Perspectivas Agrícolas OCDE-FAO 2022-2031*. Paris: OCDE, 2022.
Disponível em: <https://doi.org/10.1787/f1b0b29c-en>. Acesso em: 10 abr. 2025.

PÉREZ, E. *et al.* Phosphate solubilization by *Bacillus subtilis*: mechanisms and applications. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 176, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.108890>. Acesso em: 10 out. 2023.

PINGALI, P. L. Green revolution: impacts, limits, and the path ahead. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 109, n. 31, p. 12302–12308, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0912953109>. Acesso em: 10 abr. 2025.

POVEDA, J.; GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 105, p. 8629–8645, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11492-8>. Acesso em: 10 abr. 2025.

RAAIJMAKERS, J. M. *et al.* Soil immunity: role of microbiome in plant defense. *Trends in Microbiology*, v. 31, n. 4, p. 345–358, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2022.11.003>. Acesso em: 10 out. 2023.

RODRIGUES, C. *et al.* Biofertilizers with phosphate-solubilizing *Bacillus* spp.: applications and limitations. *Archives of Agronomy and Soil Science*, v. 69, n. 2, p. 245–259, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03650340.2022.2101827>. Acesso em: 10 out. 2023.

S., M.; A., M.; A., K. Sinergias entre *Arthrospira platensis* e *Bacillus subtilis* para a agricultura sustentável. *International Journal of Environment and Climate Change*, v. 13, n. 11, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.9734/ijeccl/2023/v13i113597>. Acesso em: 10 out. 2023.

SANTOYO, G. *et al.* How plants recruit their microbiome? New insights into plant-microbe interactions. *Trends in Plant Science*, v. 28, n. 5, p. 456–470, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.12.001>. Acesso em: 10 out. 2023.

SILVA, D. C. *et al.* Field performance of *Bacillus subtilis*-based biofertilizers in tropical soils. *Agronomy Journal*, v. 115, n. 5, p. 2120–2132, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/agj2.21345>. Acesso em: 10 out. 2023.

SMITH, D. L.; PRASAD, M.; JONES, D. L. Plant growth-promoting rhizobacteria: mechanisms and applications in sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*, v. 21, n. 3, p. 123–145, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-022->

[00820-y](#). Acesso em: 10 out. 2023.

SOUZA, H. *et al.* Precisão dos métodos DRIS e CND e faixas de suficiência de nutrientes para culturas de soja no Nordeste do Brasil. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 45, n. 1, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v45i1.59006>. Acesso em: 10 out. 2023.

STRASSBURG, B. B. N. *et al.* Global priority areas for ecosystem restoration. *Nature*, v. 586, p. 724–729, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2784-9>. Acesso em: 10 abr. 2025.

STÜLKE, J. *et al.* *Bacillus subtilis*, a Swiss Army Knife in science and biotechnology. *Journal of Bacteriology*, v. 205, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jb.00102-23>. Acesso em: 10 out. 2023.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). *World Agricultural Production Report*. Washington, DC: USDA, 2023. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline>. Acesso em: 25 out. 2024.

UWIZEYE, A. *et al.* Nitrogen emissions along global livestock supply chains. *Nature Food*, v. 1, p. 437–446, 2020.

VEJAN, P. *et al.* Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in Sustainable Agriculture: A Review. *Molecules*, v. 21, n. 5, p. 573, 2016. DOI: 10.3390/molecules21050573.

VORONINA, E. *et al.* Propriedades de bactérias potencialmente promotoras do crescimento de plantas e seu efeito na promoção do crescimento do trigo (*Triticum aestivum*) e nas características do solo. *Microbiology Research*, v. 15, n. 1, p. 2, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microbiolres15010002>. Acesso em: 10 out. 2023.

WANG, J. *et al.* *Bacillus subtilis* biofilm formation and its agricultural implications. *Journal of Microbial Biotechnology*, v. 16, n. 3, p. 221–234, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14211>. Acesso em: 10 out. 2023.

WEI, X. *et al.* Enhancing soil health and plant growth through microbial fertilizers: mechanisms, benefits, and sustainable agricultural practices. *Agronomy*, v. 14, n. 3, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy14030609>. Acesso em: 10 out. 2023.

WEN, T. *et al.* A química do exsudato radicular afeta a mobilização de carbono do solo por meio da remontagem da comunidade microbiana. *Fundamental Research*, v. 2, p. 697–707, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2021.12.016>. Acesso em: 10 out. 2023.

WORLD BANK. *Global Economic Prospects*. Washington, DC: World Bank, 2021.

Disponível em: <https://www.worldbank.org/en/publication/global-economic-prospects>. Acesso em: 10 abr. 2025.

ZHANG, W. *et al.* New technologies improve nutrient use efficiency in agriculture. *Frontiers in Plant Science*, v. 13, 2023.

ZHANG, X. *et al.* Global phosphorus use efficiency in agricultural systems: a comprehensive assessment. *Nature Food*, v. 2, p. 158–165, 2021.

ZHANG, Y. *et al.* Metabolic versatility of *Bacillus subtilis* and its role in soil ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 99, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiad105>. Acesso em: 10 out. 2023.

ZUOHEREGULI, K. *et al.* Mecanismos microbianos do solo para melhorar o crescimento de mudas de pereira aplicando biofertilizantes modificados por *Bacillus* e *Trichoderma*. *Plant, Cell & Environment*, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pce.15395>. Acesso em: 13 jan 2025.

CAPITULO 2 - THE ROLE OF BACILLUS SP. IN REDUCING CHEMICAL INPUTS FOR SUSTAINABLE CROP PRODUCTION

ABSTRACT: *Bacillus* species have emerged as promising agents for reducing chemical input in sustainable crop production. These bacteria possess diverse abilities, including nutrient cycling, phytohormone production, and stress tolerance enhancement in plants. Recent advances in omics technologies have revolutionized the understanding of *Bacillus* sp. biology and expanded their potential applications. *Bacillus*-based products have demonstrated effectiveness in reducing nitrogen and phosphorus fertilizer requirements while maintaining or improving crop yields. However, their field performance may be inconsistent, highlighting the need for further research to optimize formulations and delivery methods. The compatibility with other agricultural inputs varies depending on the specific chemicals and conditions involved. The introduction of *Bacillus* sp. can significantly affect the soil microbiome, potentially promoting plant growth and microbial diversity. Strain specificity and host compatibility play crucial roles in determining the success of host–parasite interactions. The regulatory and safety aspects require further investigation to ensure the safe and sustainable use of *Bacillus* species in various applications. The integration of *Bacillus*-based products into existing crop management systems, following the principles of Integrated Pest Management and Integrated Crop Management, is essential for their successful implementation. This review provides a comprehensive overview of the current knowledge on *Bacillus* sp. for reducing chemical inputs for sustainable crop production, highlighting the challenges and opportunities for future research and application.

Keywords: *Bacillus* sp.; sustainable crop production; chemical inputs; nutrient cycling; phytohormone production; omics technologies; integrated pest management

1. Introduction

Agricultural inputs encompass a wide range of resources and materials that are used in farming systems. Traditional inputs include labor, water, arable land, and other resources such as energy and fertilizers [1]. Chemical fertilizers, pesticides, genetically modified organisms, antibiotics, and growth hormones are commonly used [2]. However, sustainable and organic farming practices emphasize the use of alternative inputs. Organic farming systems avoid synthetic chemical inputs and maximize the use of crop rotations, animal manure, organic waste, and biological systems for nutrient mobilization and plant protection [2]. Conservation agriculture (CA) integrates the management of available natural resources such as soil, water, flora, and fauna, with minimal external inputs [3]. Similarly, low external input sustainable agriculture (LEISA) focuses on farm-derived inputs and productivity based on ecological processes and functions [4].

Chemical fertilizers are synthetic substances used in agriculture to provide essential nutrients to plants, primarily nitrogen, phosphorus, and K, to enhance crop productivity and yield [5]. Fertilizers play a pivotal role in modern agricultural systems by maintaining the balance of nutrients in the soil and boosting plant growth [5]. However, the use of chemical fertilizers has been a subject of debate. Although they have contributed to increased food production, their excessive and imbalanced use has led to significant

environmental and health concerns. The indiscriminate application of chemical fertilizers, particularly urea, has resulted in reduced soil health and increased cultivation costs [6]. Chemical fertilizers, which are designed to enhance crop growth and productivity, have been associated with numerous problems that affect human health, the environment, and agricultural sustainability. Excessive and uncontrolled use of chemical fertilizers has led to significant environmental issues, including water pollution, soil degradation, and climate change [7]. These fertilizers

can contaminate groundwater, potentially causing health hazards, such as hormone disruption, reproductive abnormalities, and cancer when consumed over extended periods [8]. Additionally, nitrogenous fertilizers have been linked to human and animal diseases through groundwater pollution [9].

Interestingly, while chemical fertilizers were initially considered a boon for humankind, scientific advancements have revealed their detrimental effects on soil health and ground- water quality [8]. The persistent nature of these agrochemicals negatively affects soil microbial communities, which are crucial for sustaining various nutrient cycles [8]. Moreover, the inability to determine the appropriate amounts, types, and application periods of fertilizers contributes to global warming and climate change, further affecting agricultural productivity [10]. The problems caused by chemical fertilizers extend beyond environmental concerns, including serious human health risks and long-term agricultural sustainability issues. These findings highlight the urgent need for alternative approaches, such as biofertilizers and sustainable agricultural practices, to mitigate the negative effects of chemical fertilizers while meeting global food demands [10].

The pesticides used in agriculture include herbicides, insecticides, fungicides, nematocides, and rodenticides. Herbicides account for the largest market share (around 40%), followed by insecticides (17%) and fungicides (10%) [11]. These chemicals are used to control weeds, insects, diseases, and other pests that threaten crop production. However, the widespread use of pesticides has resulted in significant environmental and health problems. They pose risks to human health and the natural environment, affecting beneficial insect groups, aquatic species, and soil microorganisms. Pesticides can accumulate in soil and water, causing harm to ecosystems and loss.

They have been linked to genotoxicity, including mutagenicity, carcinogenicity, and teratogenicity [12]. Acute pesticide poisoning is a significant cause of morbidity and mortality worldwide, with an estimated three million severe cases and 220,000 deaths annually [13]. Although pesticides play a crucial role in increasing agricultural productivity and feeding the growing human population, their use comes at a considerable cost to ecosystems and human health [14]. The negative impacts of

pesticides highlight the need for more sustainable agricultural practices, such as integrated pest management and biopesticide development, to protect both the environment and human well-being [15].

Bacillus is a diverse genus of rod-shaped spore-forming bacteria belonging to the Firmicutes phylum [16]. These bacteria are ubiquitous in nature, predominantly found in soil, and have been reported in various ecological niches [17]. This genus is known for its remarkable genetic and metabolic diversity, which enables *Bacillus* species to serve multiple ecological functions and adapt to a wide range of environments [17]. *Bacillus* species possess numerous abilities that make them useful in various fields. In agriculture, they play crucial roles in nutrient cycling, conferring stress tolerance to plants and improving plant growth through phytohormone production [17]. Some *Bacillus* species, particularly those in the *B. cereus* group, are opportunistic pathogens that cause food poisoning [18]. Many *Bacillus* species are beneficial and have been extensively exploited in the agro-biotechnology industry [17]. They produce antimicrobial substances, making them valuable for controlling microbial infections [19]. Additionally, *Bacillus* spp. have industrial applications in enzyme production, vitamin synthesis, and plant-growth-promoting formulations [20].

The *Bacillus* genus encompasses a wide range of species with diverse abilities, ranging from beneficial soil bacteria to potential pathogens. Their capacity to form resistant endospores, produce antimicrobial compounds, and adapt to various environments makes them significant in ecological, agricultural, industrial, and medical contexts [17]. The versatility of *Bacillus* species continues to drive research and application in multiple fields, highlighting their importance in both natural ecosystems and human activities. *Bacillus* sp. is a promising genus for food production owing to its versatile characteristics and numerous beneficial applications.

Bacillus spp. are widely recognized for their ability to produce a variety of useful substances and extracellular enzymes, making them valuable in the food, pharmaceutical, agricultural, and environmental industries [21]. This genus is particularly attractive for industrial use because of its short growth time, capacity to secrete proteins, and safety in humans [22]. *Bacillus* species can grow efficiently using inexpensive carbon sources, making them cost-effective for industrial

production [21,23]

Interestingly, although *Bacillus* sp. offers numerous benefits in food production, it also presents challenges. Some *Bacillus* species, particularly *Bacillus cereus*, have been implicated in foodborne gastroenteritis [24]. However, certain *Bacillus* strains exhibit antimicrobial properties against foodborne pathogens, potentially contributing to food safety [25]. This dual nature highlights the importance of careful strain selection and control measures for food applications. *Bacillus* sp. hold great promise for food production because of its versatility, efficiency, and potential for producing valuable enzymes and antimicrobial substances. Their ability to form spores allows them to survive various food-processing operations, making them both a challenge and an opportunity for food production [26]. The adaptability of this genus to different environmental conditions and its potential as a probiotic further enhance its value in the food industry [27].

Recent research has highlighted their benefits, including nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and growth hormone production. *Bacillus* species also act as biocontrol agents, mitigating phytopathogens, and protecting plants. Advances in molecular biology have helped elucidate the genetic and metabolic interactions between *Bacillus* species and plants. Additionally, biotechnological innovations have led to the development of *Bacillus*-based biofertilizers and biopesticides, offering sustainable alternatives to chemical inputs. The integration of biochar and *Bacillus* species is crucial for improving soil fertility and promoting sustainable agriculture through better nutrient retention and plant growth [23,28]

1.1 The Change in Classification of *Bacillus* sp.

Recent advances in sequencing technology have led to significant changes in the nomenclature of *Bacillus* species, particularly within the *Bacillus subtilis* group, which includes many commercially important strains that are used as biocontrol agents and plant growth promoters [29]. These changes have resulted in taxonomic revisions and the identification of strains that were previously registered under different species names. Interestingly, a study revealed that most of the 14 *Bacillus* strains registered

as plant pathogen crop protection products in the United States were initially classified under the species nomenclature, which is inconsistent with their current taxonomy [29]. This discrepancy highlights the importance of keeping the nomenclature up to date with the latest scientific findings. To address this issue, researchers have developed selective primers to identify *Bacillus velezensis*, which was found to be the most commonly misidentified strain in the study. These changes in *Bacillus* nomenclature over the past decade have significant implications for research, regulatory actions, and product labeling. The findings of the study emphasize the need to establish a clear link between research literature and product labels, which should lead to improved knowledge and more accurate identification of *Bacillus* species [29]. This ongoing refinement of bacterial nomenclature reflects the dynamic nature of microbial taxonomy and the importance of adapting it to new scientific discoveries. One of the main issues is the difficulty in interpreting molecular data from environmental sequencing projects within a bacterial ecological framework. In particular, the genus *Bacillus* demonstrates ecological diversity that extends beyond what was previously imaginable, complicating our understanding of *Bacillus* ecology and evolution [30]. For instance, ecologically distinct clusters of *B. simplex* have been identified in evolutionary canyons, and species demarcation in the industrially and medically important *B. cereus* group has proven to be challenging.

1.2 The Importance of Omics Technology to *Bacillus* sp.

Omics technology is a comprehensive analytical approach that enables the study of biological systems at various molecular levels. These technologies include genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics, epigenomics, and lipidomics [31]. High-throughput techniques have been used to generate large-scale datasets that provide insights into complex interactions and functions within living organisms [32]. These technologies have revolutionized biomedical research by allowing scientists to examine biological processes in their entirety, rather than focusing on individual components. For instance, single-cell multi-omics technologies can simultaneously analyze RNA expression, single-nucleotide polymorphisms, epigenetic modifications, and protein abundance, thereby providing a more comprehensive understanding of cellular mechanisms [33]. Additionally, omics

technologies have found applications in diverse fields such as crop improvement, human health, environmental studies, and industrial sectors [31,34]

Omics technologies represent a paradigm shift in life science research, moving from reductionist approaches to global-integrative analytical methods. They offer unprecedented opportunities to unravel the complexities of biological systems and have the potential to advance precision medicine, drug discovery, and our understanding of disease mechanisms [35]. However, the vast amount of data generated by these technologies presents challenges in terms of data processing, integration, and interpretation, necessitating the development of sophisticated bioinformatics tools and computational approaches [36].

Omics technologies have significantly contributed to studies using *Bacillus* spp., providing valuable insights into their genomic and proteomic characteristics. These advancements have enhanced our understanding of *Bacillus* spp. and have expanded their potential applications. Bioinformatic tools have been instrumental in characterizing the genomic and proteomic sequences of *Bacillus* sp., enabling the prediction of genes and proteins [37]. The integration of genomics and proteomics, coupled with two-dimensional electrophoretic separation of proteins and mass spectrometry, has become a high-throughput technique for analyzing gene and protein expression, discovering new genes or protein products, and understanding gene and protein functions in post-genomic studies [37].

Interestingly, the application of omics technologies to *Bacillus* sp. has led to the development of numerous databases, facilitating rapid information retrieval for both genomic and proteomic research. These databases have made it possible to identify sites for post-translational modifications based on specific protein sequence motifs, which play crucial roles in protein structure, activity, and compartmentalization [37]. Moreover, the study of secreted proteins from *Bacillus* sp. has gained attention because of their potential therapeutic value and applications in biomedicine [37].

Omics technologies have revolutionized *Bacillus* sp. research by providing comprehensive molecular profiling. These advancements have not only deepened

our understanding of *Bacillus* sp. biology but have also opened up new avenues for their application in various fields, particularly in biomedical research and therapeutic development.

1.3 Mode of Action

Bacillus species, particularly *B. subtilis*, employ multiple mechanisms to promote plant growth and enhance stress tolerance. These plant-growth-promoting bacteria (PGPB) act through various direct and indirect modes of action. *Bacillus* strains facilitate plant nutrient acquisition by fixing nitrogen and solubilizing phosphorus, making these essential nutrients more accessible to plants [38]. They also produce phytohormones such as indole acetic acid (IAA), gibberellins, and polyamines, which stimulate plant growth and development [39]. Additionally, *Bacillus* species secrete stress-mitigating enzymes like 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase, which helps plants cope with various environmental stresses [40]. *Bacillus* strains act as biocontrol agents by suppressing soil-borne

Diseases through the production of antifungal compounds and hydrolytic enzymes [41]. They also induce systemic resistance in plants and enhance defense mechanisms against pathogens [42]. Some *Bacillus* species can inhibit quorum sensing in pathogenic bacteria, further contributing to plant protection [40].

Bacillus species promote plant growth through multiple mechanisms, including nutrient provision, phytohormone production, stress alleviation, and pathogen suppression. These diverse modes of action make *Bacillus* an effective PGPB for improving crop productivity and reducing the need for chemical inputs in agriculture [40]. However, further research is needed to fully understand and utilize the potential of *Bacillus* spp. in horticulture and sustainable agriculture [43].

1.4 Consistency in Field Performance

Laboratory experiments and field conditions often yield discrepancies in the results for *Bacillus*-based products, as observed across various scientific disciplines. This phenomenon is not unique to *Bacillus* studies but extends to multiple areas of

research. In ecological studies, combining field observations with controlled laboratory experiments can provide more robust insights [44].

While field observations may reveal correlations between plant species composition and soil bacterial communities, laboratory microcosm experiments can help establish causal relationships by isolating specific factors, such as plant community composition. However, it is important to note that such controlled experiments may not fully capture the complexity of real-world conditions. Interestingly, similar discrepancies were observed in other studies. For instance, in hydraulic fracturing experiments, significant differences were observed between the calculated minimum stresses from the fracture closure pressure and the actual values obtained under the experimental conditions [45].

In weathering studies of silicate minerals, laboratory rates can be up to five orders of magnitude higher than those inferred from field studies [46]. These examples highlight the challenges of extrapolating laboratory results to real-world scenarios.

Novel approaches have been developed to address these discrepancies. For example, the use of Si isotope ratios to measure weathering rates under close-to-natural conditions [46]

or conducting experiments that simulate both laboratory and actual field conditions, as observed in friction and wear behavior studies of alloys [47]. These efforts aim to bridge the gap between controlled experiments and real-world applications, providing more accurate and relevant data for the practical use of *Bacillus*-based products and other scientific applications.

1.5 Reduction in Nitrogen Fertilization

Several studies have demonstrated the effectiveness of *Bacillus* spp. in reducing nitrogen fertilizer requirements while maintaining or improving crop yield. In peanut cultivation, a combination of *Bacillus* spp. NTLG2-20 inoculant with a 50% reduction in nitrogen fertilizer (20 kg N ha^{-1}) resulted in a 17.6% higher yield compared with no nitrogen application and showed no significant difference from the recommended 100% nitrogen application [48].

Similarly, during potato cultivation, inoculation with *Bacillus* sp. OSU-142 increased tuber yield and yield components at all nitrogen fertilizer levels, with the most beneficial effect observed at 120 kg ha⁻¹ nitrogen [49]. Interestingly, the use of *Bacillus* sp. not only reduces the need for nitrogen fertilizers but also mitigates the environmental risks associated with excessive nitrogen use. For instance, biofertilizers made from *Bacillus* sp. T28 combined with sea buckthorn pomace reduced NO₃⁻-N content by 33.1–43.8% and decreased N₂O release rates by 8–26 times in paddy soil [50].

This demonstrates the potential of *Bacillus* spp. to improve soil health and reduce environmental pollution. In potato cultivation, the beneficial effects of *Bacillus* spp. OSU-142 on tuber yield was observed at 120 kg N ha⁻¹, suggesting a more effective inoculation in low-N input agriculture [49]. This indicates the possibility of reducing nitrogen fertilizers while maintaining productivity.

Interestingly, in soybean production, organomineral fertilization using 50% mineral and 50% organic fertilizer with bovine biofertilizer was the most efficient with and without *Bacillus* sp. inoculation [51].

This suggests a potential 50% reduction in mineral nitrogen fertilizer use when combined with organic sources. Research has consistently shown that *Bacillus* sp. can effectively reduce nitrogen fertilizer requirements across various crops while maintaining or improving yields. This approach not only benefits crop production but also contributes to more sustainable agricultural practices by mitigating the environmental risks associated with excessive nitrogen use. These studies highlight the potential of *Bacillus* sp. as a promising biological agent for the development of more efficient and environmentally friendly fertilization strategies in agriculture [50].

1.6 Reduction in Phosphorous Fertilization

Bacillus sp. has shown potential in reducing phosphorus fertilization requirements, but its effectiveness varies across studies. In soybean cultivation, the application of *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium*, either alone or in combination with phosphate fertilization, did not significantly influence the nutritional, biometric, and

productive parameters of the crop in soil with naturally low P content. This suggests that, in some cases, *Bacillus* sp. may not contribute to reducing the phosphorus fertilization needs. In a study of sugarcane, co- inoculation with *Bacillus* sp. BACBR04, *Bacillus* sp. BACBR06, and *Rhizobium* sp. RIZBR01, combined with compost as a P source, increased the P content in shoots compared with uninoculated treatments with compost or triple superphosphate [52].

This suggests that *Bacillus* sp. can enhance P uptake and potentially reduce the need for chemical P fertilizers. Organic fertilizers, when combined with phosphorus-solubilizing bacteria, such as *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*, can potentially improve phosphorus availability and uptake in plants. However, its effectiveness may vary depending on the specific conditions and application methods. In a study of a natural meadow, the application of phosphorus- solubilizing bacteria. (*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*) did not significantly affect dry matter yield or botanical composition, whereas phosphorus fertilization alone affected these parameters [53].

Interestingly, some studies have shown that a combination of organic fertilizers and phosphorus can have positive effects on crop yield and quality. For instance, in medicinal pumpkin seeds, the combination of vermicompost and phosphorus fertilizer application resulted in the highest seed number and oil percentage [54]. Similarly, the combined application of organic, NPK, and phosphorus fertilizers (OCPF) in a teak plantation improved soil quality and optimized bacterial community structure [55].

While the specific combination of organic fertilizers and *Bacillus* spp. for reducing phosphorus fertilization shows limited direct evidence of effectiveness, the overall approach of integrating organic and inorganic fertilizers appears promising for improving soil fertility, crop yield, and microbial community structure. Further research is required to determine the optimal combinations and application methods for different crops and soil types. Several studies have demonstrated the positive effects of *Bacillus* spp. on phosphorus availability and crop yield. For instance, inoculation with *Bacillus atrophaeus* combined with mycorrhizal fungi enhanced maize yield by 4.2% compared with standard fertilizer treatments [56].

Similarly, *Bacillus subtilis* inoculation improved some plant parameters in maize, although the effects were complex when combined with rock phosphate fertilization [57]. However, the effectiveness of *Bacillus*-based products has not always been consistent. In a study of natural meadows, phosphorus-solubilizing bacteria (*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*) did not show any significant effect on dry matter yield or botanical composition, whereas phosphorus fertilization had an impact [58]. This suggests that the effectiveness of *Bacillus*-based products may depend on specific environmental conditions and plant species. Figure 1 shows the aspects related to the effects of *Bacillus* sp. inoculation on plant production.

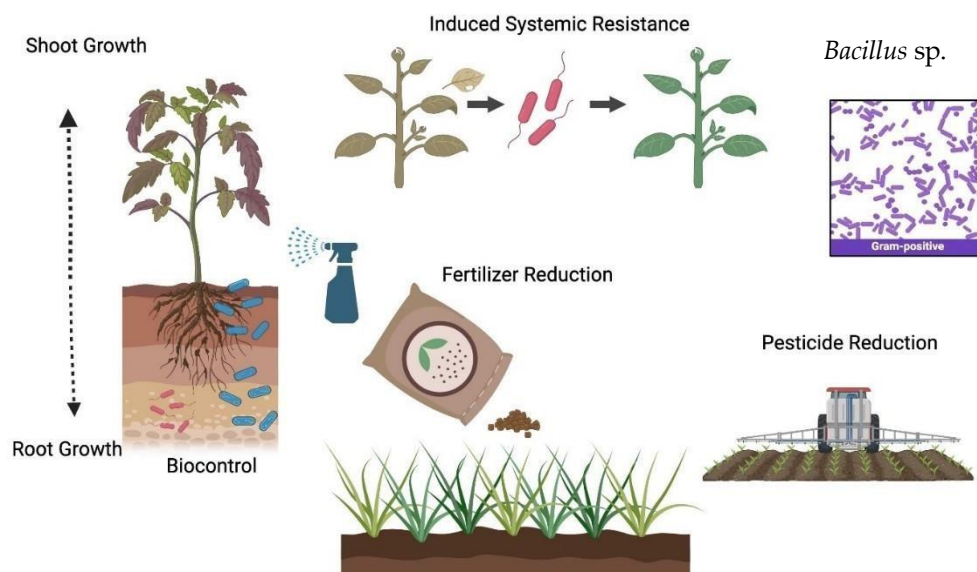


Figure 1. Aspects related to the effects of *Bacillus* sp. inoculation on plant production.

1.7 Compatibility with Other Inputs

Mixing operations in agriculture and food processing are crucial for blending ingredients to create uniform mixtures that are essential for producing acceptable food products [59]. This process can also be used to alter the properties of dough, indicating its versatility in food production. Blending agricultural products can enhance product attributes, increase product safety by replacing harmful chemicals with safer alternatives, reduce the consumption of non-sustainable materials, and decrease pollutant release into the atmosphere [60].

This demonstrates the potential of mixing to improve both product quality and environmental sustainability. In the context of sustainable agriculture, mixing or blending can contribute to minimizing inputs, waste, and pollution [61]. This approach can help address concerns related to the increasing world population, human diet, and overexploitation of natural resources. Interestingly, while mixing can offer benefits, it is important to note that existing cropping patterns may not always align with comparative advantages in agriculture. For instance, a study in Ilam Province showed that the current cropping pattern was not allocated according to comparative advantage but was related to the effective protection coefficient [62].

Mixing bacteria-based products with chemical products can be compatible in certain cases but depends on the specific components and their intended use. Some studies have demonstrated the successful combination of biological and chemical approaches. For example, researchers have combined chemical catalysis with bioconversion to valorize polyethylene deconstruction products [63].

They used chemical catalysis to break down polyethylene into n-alkanes, which were then utilized by the microbial consortia. This demonstrates that the carefully selected bacterial strains are compatible with chemically processed materials. However, the compatibility is not universal. Many chemical products, especially those with antimicrobial properties, can inhibit or kill beneficial bacteria. For instance, a study on Z-Mix, a zinc-oxide-based medicament containing antibiotics, demonstrated its antimicrobial effects against various bacteria [64].

However, these products are not compatible with probiotic bacteria. Although some innovative approaches successfully combine bacterial and chemical products, compatibility must be assessed on a case-by-case basis. Factors such as the specific bacterial strains, chemical components, and intended applications need to be carefully considered to ensure that the mixture remains effective and the bacteria are viable.

Bacillus sp. products are compatible with certain chemical products, but their compatibility varies depending on the specific chemicals and conditions involved.

Some studies have shown promising results for combining *Bacillus* spp. with chemical products. For instance, a protease produced by the thermophilic *Bacillus* sp. demonstrated good stability and compatibility with commercial laundry detergents, retaining over 80% of its activity after 30 min of incubation at 60 °C with Tide® detergent, USA Cheshire, CT [65].

Similarly, cutinase from *Bacillus* sp. KY0701 exhibits high stability and compatibility with commercial detergents, making it a potential candidate for application in the detergent industry [66]. However, compatibility is not universal. Some chemical agents can inhibit or deactivate enzymes in *Bacillus* sp. For example, while the protease from thermophilic *Bacillus* sp. was stable in the presence of EDTA and some detergents, it was inhibited by Triton X-100 and unstable in a 5% peroxide solution [65].

In addition, a study of cellulases from *Bacillus* sp. SMIA-2 showed that the compatibility of the enzyme varied with different laundry detergents, being more stable with Ultra Biz® and less stable with Ariel® USA, Cheshire, CT [67]. Although *Bacillus* sp. products can be compatible with certain chemical products, especially in detergent applications, their compatibility should be evaluated on a case-by-case basis. Factors such as pH, temperature, and specific chemical agents can significantly affect the stability and activity of *Bacillus* spp. Therefore, careful testing and optimization are necessary when considering mixtures of *Bacillus* sp. products and chemical agents for industrial or commercial applications.

1.8 Strain Specificity and Host Compatibility

Strain specificity and host compatibility play crucial roles in determining the success of host–parasite interactions across various biological systems. Studies have shown that the outcome of these interactions depends on both host and pathogen genetic factors as well as their specific combinations [68]. This specificity can influence infection rates, transcriptional responses, and the overall compatibility between hosts and pathogens. In the case of *Mycobacterium tuberculosis*, research has revealed that host–strain compatibility significantly affects infection outcomes. Compatible host–

strain combinations exhibit higher infection rates and distinct transcriptional patterns than low-compatibility infections [69].

Similarly, in the Citrus tristeza virus (CTV) system, strain-specific interactions can overcome tissue tropism limitations in selective hosts, highlighting the importance of compatibility between gene products of different strains and the host [70]. Interestingly, contradictions and variations in host specificity have been observed in different systems. For instance, although bat flies have historically been viewed as non-specific, recent biodiversity surveys have demonstrated high host specificity for many species [71].

In contrast, studies on *Frankia* strains of Asian origin showed less diversity in host specificity compared with North American and European strains [72]. These findings underscore the complexity of host–parasite interactions and the need for careful consideration of genetic and environmental factors. Strain specificity and host compatibility are critical determinants of host–parasite interactions, influencing infection success, transcriptional responses, and evolutionary dynamics. Understanding these mechanisms is essential for developing effective strategies to manage diseases and predict the outcomes of host–parasite associations in various biological systems.

1.9 Impact on Soil Microbiome

Plant microbiomes can be manipulated to promote plant growth through various approaches. Microbiome engineering is an emerging biotechnological strategy to improve crop yield and resilience. This can be achieved through indirect methods, such as using soil amendments or selective substrates, and direct methods, such as inoculation with specific probiotic microbes, artificial microbial consortia, microbiome breeding, and transplantation [73]. High-efficiency top-down approaches based on high-throughput technology and synthetic communities (SynCom) can be used to identify and apply plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in the rhizosphere [74]. Interestingly, the composition of the microbial community is influenced by various factors, including soil type, plant

genotype, plant exudates, and cultivation practices [75]. This complexity necessitates both reductionist and systems ecology approaches to identify biotic and abiotic factors involved in microbiome assembly [76].

In conclusion, several strategies can be employed to harness the rhizosphere microbiome and enhance crop productivity. These include the use of organic and inorganic amendments, microbial inoculants, synthetic microbial consortia, host-mediated microbiome engineering, prebiotics made from specific plant root exudates, and crop breeding to promote beneficial plant-microbiome interactions [77]. Additionally, bioengineering of the endophyte microbiome through methods such as host-mediated and multi-generation microbiome selection, inoculation into soil and rhizosphere, seed or seedling inoculation, tissue atomization, and direct injection into tissues or wounds can be effective [78].

The introduction of *Bacillus* sp. into plants can have a significant impact on the soil microbiome. *Bacillus* spp. can induce changes in the overall soil microbial community structure. For instance, it has been observed to alter the fungi/bacteria ratio and is negatively correlated with the relative abundance of phagotrophic protists [79]. This bacterial introduction can also increase the total number of microorganisms, amino heterotrophs, and *Azotobacter* spp. in the soil [80].

Interestingly, the impact of *Bacillus* sp. on plants and the soil microbiome can vary depending on environmental factors. For example, the effect of *B. subtilis* on plants decreases with increasing soil bulk density and fertilizer rate [81]. Additionally, *Bacillus* sp. can enhance the resistance of the plant-microbial system to the adverse effects of high nitrogen fertilizer rates by rearranging bacteria in the rhizosphere ecological niches [81].

The introduction of *Bacillus* sp. can lead to significant alterations in the soil microbiome, potentially promoting plant growth and enhancing the soil microbial diversity. However, its effects can be modulated by various environmental factors, highlighting complex interactions within the soil ecosystem. The ability of *Bacillus*

sp. to influence the soil microbiome makes it a promising candidate for sustainable agricultural practices and bioremediation strategies [82].

1.10 Formulation and Delivery Methods

Bacillus-based bioinoculants face challenges related to stability, shelf life, and application methods, which require research in several key areas. Formulation additives play a crucial role in enhancing the survival and stability of liquid bioinoculants. A previous study found that 2% polyvinylpyrrolidone, 0.1% carboxymethylcellulose, and 0.025% polysorbate 20 significantly improved the long-term survival of *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*, maintaining 5.6×10^7 colony forming units (CFU) mL⁻¹ after 480 days when stored at 30 °C [83].

This highlights the importance of optimizing formulation components to extend the shelf life. Interestingly, although liquid formulations show promise, talc-based formulations have also demonstrated effectiveness as carriers for *Streptomyces* species, which are similar to *Bacillus* spp. as soil-dwelling bacteria [84]. This suggests that exploring various carrier materials could lead to improved stability and delivery methods of *Bacillus*-based bioinoculants.

To address these challenges, researchers should focus on novel encapsulation techniques and formulation strategies. Bioencapsulation using appropriate polymers and capsule sizes can enhance the survival, colonization efficiency, and storage period of bioinoculants [85]. Additionally, investigating the use of probiotics and their metabolites in edible packaging could provide innovative delivery methods, potentially improving both the shelf life and efficacy of *Bacillus*-based products in agricultural applications [86].

Root colonization by beneficial rhizobacteria is crucial for plant growth promotion and biocontrol. Effective delivery systems are essential to ensure the even distribution and sustained activity of *Bacillus* strains in the rhizosphere. In-furrow spray application has been shown to be an effective method for inoculating plants with rhizosphere-competent bacteria. Studies have demonstrated that maximum root colonization can be achieved using cell suspensions of log 7–8 colony-forming units (cfu)/mL applied at a rate of 10 mL/m for crops, such as canola,

soybean, and wheat [87]. This technique avoids interactions with formulation components and may be valuable for commercial delivery when compatible with agronomic practices. Interestingly, the efficacy of root colonization can be enhanced through genetic modifications. For instance, disrupting the global transcription regulator AbrB in *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 significantly improved its colonization and biocontrol activity [88]. Additionally, the type VII secretion system and its major secreted protein YukE were found to be critical for root colonization by promoting iron leakage from plant roots during the early stages of inoculation [89].

Although in-furrow spray application provides a practical delivery method, genetic modifications of *Bacillus* strains offer promising avenues to enhance their root colonization abilities and extend their activity periods. Further research into optimizing formulations and delivery systems, combined with genetic improvements, could lead to more effective and sustained colonization of beneficial *Bacillus* strains in agricultural applications.

1.11 Regulatory and Safety Aspects

Bacillus species are generally regarded as safe for use in various applications, including food production and biocontrol. However, as their large-scale use increases, the regulatory and safety aspects require further investigation. Further studies are needed to evaluate the long-term effects of *Bacillus*-based products on human health and the environment. Although *B. subtilis* and certain other species are classified as Generally Recognized As Safe (GRAS) by the Food Drug Administration (FDA), the safety of new strains or genetically modified *Bacillus* species used in industrial applications must be thoroughly evaluated [90].

The safety of novel strains or genetically modified *Bacillus* species used in industrial applications needs to be thoroughly assessed. This is particularly important when considering their use in food production or as biocontrol agents in agriculture [91]. Although *Bacillus* species show promise in mitigating heavy metal stress in plants and promoting plant growth [92], there are concerns regarding their potential to produce toxins or cause allergic reactions in some individuals [93].

Additionally, the use of *Bacillus* spp. in animal feed as probiotics raises questions about their colonization and dissemination in animal guts, necessitating the

establishment of testing and production standards [94]. To ensure the safe and sustainable use of *Bacillus* species in various applications, more comprehensive studies are needed to address potential safety risks, establish clear regulatory frameworks, and develop standardized testing protocols. This includes assessing their environmental impact, potential allergenicity, and long-term effects on human and animal health [92].

Collaboration among researchers, industry, and regulatory bodies is crucial for developing science-based guidelines that balance technological progress with robust safety standards. Figure 2 shows the mode of action of *Bacillus* sp., demonstrating several abilities related to plant growth.

1.12 Integration into Crop Management Systems

Integrating *Bacillus*-based products into existing agricultural practices is crucial for their successful implementation in crop management systems. These biopesticides offer promising alternatives to conventional pest control methods based on integrated pest Management (IPM) and crop management (ICM) [95]. *Bacillus thuringiensis* (Bt) has gained widespread use in the global biopesticide market because of its effectiveness against target pests in economically important crops [95].

The integration of Bt-based products complements physical and cultural methods in pest and disease management, contributing to the reduction in pest populations below economic injury levels while minimizing impacts on the agro-ecosystem and environmental conditions [95]. Interestingly, the transition from conventional to organic farming systems presents both challenges and opportunities for the integration of *Bacillus*-based products. During this transition period, growers may face pest control difficulties and lower yields when abandoning conventional practices [96]. However, biopesticides, such as Bt, can play a crucial role in supporting this transition by providing effective pest control while aligning with organic farming principles.

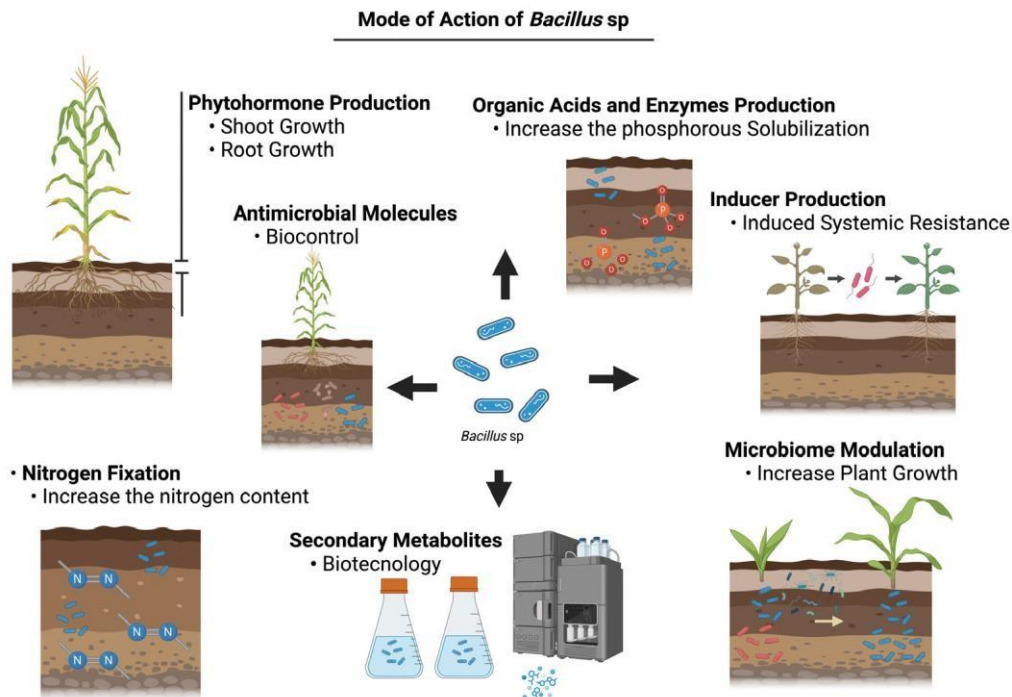


Figure 2. Mode of action of *Bacillus* sp., showing several abilities related to plant growth.

The successful integration of *Bacillus*-based products into crop management systems requires a holistic approach that considers the principles of ICM and IPM. By incorporating these biopesticides into existing practices, farmers can enhance pest control efficacy, reduce environmental impact, and contribute to more sustainable agricultural systems. This integration aligns with the growing focus on crop quality, safety, and sustainability in modern agriculture [95]. Table 1 shows the impact of *Bacillus* sp. inoculation on plant growth through various improvements.

Table 1. The impact of *Bacillus* sp. inoculation on plant growth through various improvements.

<i>Bacillus</i> spp.	Improvement	References
sp.	50% reduction (20 kg N ha ⁻¹) 17.6% higher yield	[2]
Sp	Effective at 120 kg N ha ⁻¹ Increased tuber yield Reduced NO ₃ ⁻ -N by 33.1–43.8%, decreased N ₂ O release	[5] [6]

	rates by 8–26 times	
<i>B. subtilis</i> <i>B. megaterium</i>	50% mineral and 50% organic fertilizer	[7]
<i>Bacillus sp.</i>	Increased P content in shoots	[8]
<i>B. atrophaeus</i> , <i>B. subtilis</i>	Enhanced yield by 4.2%, improved plant Changed the microbiome and improved crop yield and resilience	[9] [10]
<i>Bacillus sp.</i>	Increased microorganism heterotrophs	[29]
<i>Bacillus sp.</i>	Decreased nitrogen fertilization	[30]
<i>Bacillus sp.</i>	Promoted plant growth, enhance soil microbial Changed the microbiome and promoted plant growth because of these changes Altered the relationships between the microbes and facilitated plant growth.	[31] [13] [15]

2. Conclusions

Although several studies have demonstrated the capacity of bacteria from the genus *Bacillus* to reduce the quantity of mineral fertilizers because of their ability to fix atmospheric nitrogen and decrease dependency on mineral phosphorus fertilizers through phosphorus solubilization, their application in food production remains limited.

This limited usage can be attributed to several factors. Agricultural enterprises often lack access to scientific studies, and there are significant challenges in translating and applying the information contained in these studies to practical food production. Furthermore, the results obtained from controlled studies are not entirely replicable under farming conditions. In addition, in large-scale agricultural operations, aerial application of inputs is typically employed to enhance efficiency.

To minimize application costs, multiple chemical and biological products are frequently combined. However, this practice does not ensure the viability of

microorganisms present in the biological products. Substantial variations exist in the soil composition, climatic conditions, and production management practices. Consequently, the outcomes observed in scientific studies may not be precisely replicated in agricultural settings. There is significant pressure on farms to utilize mineral fertilizers, driven by numerous companies that market these products and their ease of use.

Additionally, farms have more experience employing mineral fertilizers than products based on microorganisms. In addition, it is challenging to adopt measures to reduce the use of mineral fertilizers in food production and accept the risk of decreased productivity. Such a decision is likely to incur high costs and result in numerous problems. Numerous studies have demonstrated the efficacy of *Bacillus* sp. in reducing various agricultural inputs, particularly nitrogen and phosphorus fertilizers. As previously mentioned, this effect is a result of the combined ability of bacteria to fix atmospheric nitrogen, solubilize unavailable phosphorus in the soil, and enhance the efficiency of plants to explore the soil and uptake nutrients.

This practice has the potential to reduce production costs and environmental impact without compromising productivity. However, the consumption of mineral fertilizers continues to increase annually. This discrepancy represents the gap between theoretical knowledge and practical applications.

Future and Perspectives

With a comprehensive understanding of how microorganism-based products function, as well as an in-depth knowledge of plant–microorganism interactions in various environments, soil types, and conditions, the outcomes generated from the utilization of microorganism-based products will demonstrate increased consistency.

This technology has been widely recognized and disseminated. Consequently, an increasing number of farms will adopt it and be incentivized to reduce their reliance on mineral fertilizers. These farms are likely to benefit from reduced production costs, decreased environmental impacts, and more sustainable food production practices.

Author Contributions: Conceptualization, E.C.R. and L.R.S.; methodology, L.R.S.; writing—original draft, L.R.S.; writing—review and editing, E.C.R.; visualization, E.C.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Data Availability Statement: Data are contained within the article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

3. REFERENCE

1. DWIVEDI, U. et al. Agriculture Equipment's and Smart Technology. In: FUTURISTIC TRENDS IN AGRICULTURE ENGINEERING & FOOD SCIENCES. Chikkamagaluru: Iterative International Publishers, 2024. p. 107–125. ISBN 9789357477307.
2. SONI, R.; YADAV, S.K. Prospects of Organic Farming as Financial Sustainable Strategy in Modern Agriculture. In: SOIL FERTILITY MANAGEMENT FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT. Singapore: Springer, 2019. p. 251–265. ISBN 9789811359033.
3. CHOUDHARY, M. et al. Conservation Agriculture and Climate Change: An Overview. In: CONSERVATION AGRICULTURE. Singapore: Springer, 2016. p. 1–37. ISBN 9789811025570.
4. FORSTER, D. et al. Organic Agriculture—Driving Innovations in Crop Research. In: AGRICULTURAL SUSTAINABILITY. Amsterdam: Elsevier, 2012. p. 21–46. ISBN 9780124045606.
5. NADARAJAN, S.; SUKUMARAN, S. Chemistry and Toxicology behind Chemical Fertilizers. In: CONTROLLED RELEASE FERTILIZERS FOR SUSTAINABLE AGRICULTURE. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 195–229. ISBN 9780128195550.
6. SINGH, U.R. Bio-Fertilizers: Demand of Modern Time and Safe Future. Anusandhaan Vigyaan Shodh Patrika, v. 5, p. 1220, 2017. DOI: [CrossRef].
7. DHANKHAR, N.; KUMAR, J. Impact of Increasing Pesticides and Fertilizers on

Human Health: A Review. *Materials Today: Proceedings*, 2023. DOI: [CrossRef].

8. HOSSAIN, M.E.; HOSSAIN, S.A.; SHAHRUKH, S. Chemical Fertilizers and Pesticides: Impacts on Soil Degradation, Groundwater, and Human Health in Bangladesh. In: *ENVIRONMENTAL DEGRADATION: CHALLENGES AND STRATEGIES FOR MITIGATION*. Berlin/Heidelberg: Springer, 2022. p. 63–92. ISBN 9783030955410.

9. IJAZ, M. et al. Alternatives to Synthetic Fertilizers. In: *PHYSICAL SCIENCES GRADE 12*. Cupertino: Apple Academic, 2021. p. 253–273. ISBN 9781003105046.

10. ARJUMEND, T.; SARIHAN, E.O.; YILDIRIM, M.U. Plant-Bacterial Symbiosis: An Ecologically Sustainable Agriculture Production Alternative to Chemical Fertilizers. London: IntechOpen, 2022. ISBN 9781803555522.

11. DA SILVA COELHO-MOREIRA, J. et al. Involvement of Lignin-Modifying Enzymes in the Degradation of Herbicides. In: *HERBICIDES—ADVANCES IN RESEARCH*. Lodz: Institute for New Technologies, 2013. ISBN 9789535111221.

12. GRANT, W.F. Cytogenetic Studies of Agricultural Chemicals in Plants. *Basic Life Sciences*, v. 21, p. 353–378, 1982. DOI: [CrossRef].

13. OJANPERÄ, I. Pesticides. In: *HANDBOOK OF ANALYTICAL SEPARATIONS*. Amsterdam: Elsevier, 2000. v. 2, p. 391–403. ISBN 9780444829986.

14. SOOD, P. Pesticides Usage and Its Toxic Effects—A Review. *Indian Journal of Entomology*, v. 86, p. 339–347, 2023. DOI: [CrossRef].

15. PUNNIYAKOTTI, P. et al. Environmental Fate and Ecotoxicological Behaviour of Pesticides and Insecticides in Non-Target Environments: Nanotechnology-Based Mitigation Strategies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 12, 113349, 2024. DOI: [CrossRef].

16. ØKSTAD, O.A.; KOLSTØ, A.-B. Genomics of *Bacillus* species. In: *GENOMICS OF FOODBORNE BACTERIAL PATHOGENS*. New York: Springer, 2010. p. 29–53. ISBN 9781441976857.

17. SAXENA, A.K. et al. *Bacillus* Species in Soil as a Natural Resource for Plant Health and Nutrition. *Journal of Applied Microbiology*, v. 128, p. 1583–1594, 2019. DOI: [CrossRef].

18. COTE, C.K. et al. *Bacillus Anthracis* and Other *Bacillus* species. In: *MOLECULAR MEDICAL MICROBIOLOGY*. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 1789–1844. ISBN 9780123971692.

- 19.** IBRAHEEM, K.J. Antimicrobial Activity of Extracts Bacillus Species Isolated From Baghdad Soil Against Some Human Pathogenic Microorganisms. *Al Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 16, p. 82–87, 2016. DOI: [CrossRef].
- 20.** RADDADI, N. et al. The Most Important Bacillus species in Biotechnology. In: *BACILLUS THURINGIENSIS BIOTECHNOLOGY*. Berlin/Heidelberg: Springer, 2012. p. 329–345. ISBN 9789400730205.
- 21.** QIAN, J. et al. Bacillus sp. as a Microbial Cell Factory: Advancements and Future Prospects. *Biotechnology Advances*, v. 69, 108278, 2023. DOI: [CrossRef].
- 22.** ORTIZ, A.; SANSINENEA, E. The Industrially Important Enzymes from Bacillus species. In: *BACILLI IN AGROBIOTECHNOLOGY*. Berlin/Heidelberg: Springer, 2022. p. 89–99. ISBN 9783030854645.
- 23.** ROY, B. et al. Alleviation of Abiotic Stress in *Oryza Sativa* by the Application of Novel Polyextremophilic Plant Growth Promoting Bacillus. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 60, 103272, 2024. DOI: [CrossRef].
- 24.** CARLIN, F.; NGUYEN-THE, C. Pathogen Update: Bacillus Species. In: *ADVANCES IN MICROBIAL FOOD SAFETY*. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 70–96. ISBN 9780857094384.
- 25.** CAVALINI, L. et al. Characterization of the Antimicrobial Activity Produced by Bacillus Sp. Isolated from Wetland Sediment. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 93, e20201820, 2021. DOI: [CrossRef].
- 26.** PONTIERI, E. Bacillus cereus Group Diagnostics: Chromogenic Media and Molecular Tools. In: *THE DIVERSE FACES OF BACILLUS CEREUS*. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 15–33. ISBN 9780128014745.
- 27.** SHIN, H.-J. et al. Potential Use of Indigenous Bacillus sp. BCNU 9028 Isolated from Meju as a Probiotic. *Journal of Life Science*, v. 22, p. 605–612, 2012. DOI: [CrossRef].
- 28.** PATANI, A. et al. Recent Advances in Bacillus-Mediated Plant Growth Enhancement: A Paradigm Shift in Redefining Crop Resilience. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 40, 77, 2024. DOI: [CrossRef].
- 29.** DUNLAP, C.A. Taxonomy of Registered Bacillus spp. Strains Used as Plant Pathogen Antagonists. *Biological Control*, v. 134, p. 82–86, 2019. DOI: [CrossRef].
- 30.** JANDA, J.M. Clinical Decisions: How Relevant Is Modern Bacterial Taxonomy for Clinical Microbiologists? *Clinical Microbiology Newsletter*, v. 40, p. 51–57, 2018. DOI:

[CrossRef].

31. YADAV, D. et al. Overview and Principles of Bioengineering: The Drivers of Omics Technologies. In: OMICS TECHNOLOGIES AND BIO-ENGINEERING. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 3–23. ISBN 9780128046593.

32. JAUMOT, J.; BEDIA, C. Introduction to Data Analysis in Omics Sciences. In: REFERENCE MODULE IN FOOD SCIENCE. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 226–240. ISBN 9780128163962.

33. PENG, A. et al. Single-Cell Multi-Omics and Its Prospective Application in Cancer Biology. *Proteomics*, v. 20, 1900271, 2020. DOI: [CrossRef].

34. OLABEMIWO, F.A. et al. Two Plant-Growth-Promoting *Bacillus* Species Can Utilize Nanoplastics. *Science of the Total Environment*, v. 907, 167972, 2023. DOI: [CrossRef].

35. YAN, S.-K. et al. “Omics” in Pharmaceutical Research: Overview, Applications, Challenges, and Future Perspectives. *Chinese Journal of Natural Medicines*, v. 13, p. 3–21, 2015. DOI: [CrossRef].

36. LIU, J. et al. Multi-Omics Technology and Its Applications to Life Sciences: A Review. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao (Chinese Journal of Biotechnology)*, v. 38, p. 3581–3593, 2022. DOI: [CrossRef].

37. SINCHAIKUL, S. et al. Bioinformatics, Functional Genomics, and Proteomics Study of *Bacillus* sp. *Journal of Chromatography B*, v. 771, p. 261–287, 2002. DOI: [CrossRef].

38. SANSINENEA, E. *Bacillus* spp.: As Plant Growth-Promoting Bacteria. In: SECONDARY METABOLITES OF PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOMICROORGANISMS. Singapore: Springer, 2019. p. 225–237. ISBN 9789811358616.

39. KHABBAZ, S.E. et al. Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB)—A Versatile Tool for Plant Health Management. *Canadian Journal of Pesticides and Pest Management*, v. 1, p. 1, 2019. DOI: [CrossRef].

40. RAMÍREZ-POOL, J.A. et al. *Bacillus* Strains as Effective Biocontrol Agents Against Phytopathogenic Bacteria and Promoters of Plant Growth. *Microbial Ecology*, v. 87, p. 76, 2024. DOI: [CrossRef].

41. GUTIÉRREZ-SANTA ANA, A. et al. Volatile Emission Compounds from Plant Growth-Promoting Bacteria Are Responsible for the Antifungal Activity against *F.*

solani. 3 Biotech, v. 10, 292, 2020. DOI: [CrossRef].

42. XU, J. et al. *Bacillus paralicheniformis* RP01 Enhances the Expression of Growth-Related Genes in Cotton and Promotes Plant Growth by Altering Microbiota inside and Outside the Root. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, 7227, 2023. DOI: [CrossRef].

43. LASTOCHKINA, O. et al. Potential Aspects of Plant Growth Promoting Bacteria to Improve Horticultural Crop Production. *Journal of Horticultural Science*, v. 8, p. 103–122, 2021. DOI: [CrossRef].

44. HE, X. et al. Adding Experimental Precision to the Realism of Field Observations: Plant Communities Structure Bacterial Communities in a Glacier Forefield. *Environmental Microbiology*, v. 26, e16590, 2024. DOI: [CrossRef].

45. NOVIKOVA, E.V. et al. Backstress Influence on the Formation Stress Field in Hydraulic Fracturing Experiments. *Geosciences*, v. 13, 153, 2023. DOI: [CrossRef].

46. GRUBER, C. et al. Resolving the Gap between Laboratory and Field Rates of Feldspar Weathering. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 147, p. 90–106, 2014. DOI: [CrossRef].

47. BOUGOFFA, M.S.E. et al. Dry Sliding Friction and Wear Behavior of CuZn39Pb2 and AA7075 Under Industrial and Laboratory Conditions. *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*, v. 7, 38, 2021. DOI: [CrossRef].

48. CHUONG, N.V. The Impact of *Bacillus* Sp. NTLG2-20 and Reduced Nitrogen Fertilization on Soil Properties and Peanut Yield. *Communications in Science and Technology*, v. 9, p. 112–120, 2024. DOI: [CrossRef].

49. EKIN, Z. et al. The Effect of *Bacillus* Sp. OSU-142 Inoculation at Various Levels of Nitrogen Fertilization on Growth, Tuber Distribution and Yield of Potato (*Solanum Tuberosum* L.). *African Journal of Biotechnology*, v. 8, p. 4418–4424, 2009.

50. YANG, X. et al. The Impact of Novel *Azotobacter* *Bacillus* Sp. T28 Combined Sea Buckthorn Pomace on Microbial Community Structure in Paddy Soil. *Environmental Research*, v. 224, 115548, 2023. DOI: [CrossRef].

51. SANTOS, S.D.O. et al. *Bacillus* Sp., Formas de Adubação e Estresse Salino na Produção da Soja. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 28, e279072, 2024. DOI: [CrossRef].

52. ESTRADA-BONILLA, G.A.; DURRER, A.; CARDOSO, E.J.B.N. Use of Compost and Phosphate-Solubilizing Bacteria Affect Sugarcane Mineral Nutrition, Phosphorus

Availability, and the Soil Bacterial Community. *Applied Soil Ecology*, v. 157, 103760, 2020. DOI: [CrossRef].

53. ERKOVAN, H. et al. Effects of Phosphorus Fertilizer and Phosphorus Solubilizing Bacteria Applications on Clover Dominant Meadow: I. Hay Yield and Botanical Composition. *Turkish Journal of Field Crops*, v. 15, p. 12–17, 2010.

54. PAJOOHESHGAR, R. et al. Effect of Organic Substrate and Phosphorus Fertilization on Seed, Oil Yields and Composition of Medicinal Pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*). *Indian Journal of Science and Technology*, v. 8, p. 38, 2015. DOI: [CrossRef].

55. ZHANG, Q. et al. The Application of Mixed Organic and Inorganic Fertilizers Drives Soil Nutrient and Bacterial Community Changes in Teak Plantations. *Microorganisms*, v. 10, 958, 2022. DOI: [CrossRef].

56. GEIST, L. et al. Alternative Starter Fertilization Strategies in Maize (*Zea mays* L.) Cultivation: Agronomic Potential of Microgranular Fertilizer and Plant Growth-Promoting Microorganisms and Their Impact on the Soil Native Microbial Community. *Agronomy*, v. 13, 2900, 2023. DOI: [CrossRef].

57. MORAES, C.; RIGOBELLO, E.C.; SANTOS, R.M.D. Rock Phosphate Fertilization Harms *Azospirillum brasilense* Selection by Maize. *Australian Journal of Crop Science*, v. 13, p. 1967–1974, 2019. DOI: [CrossRef].

58. SUN, T. et al. Effects of Background Fertilization Followed by Co-Application of Two Kinds of Bacteria on Soil Nutrient Content and Rice Yield in Northeast China. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, v. 13, p. 154–162, 2020. DOI: [CrossRef].

59. LINDLEY, J.A. Mixing Processes for Agricultural and Food Materials: 1. Fundamentals of Mixing. *Journal of Agricultural Engineering Research*, v. 48, p. 153–170, 1991. DOI: [CrossRef].

60. YUNUS, N.; MANAN, Z.A. Optimization of Blending-Based Products. In: *COMPUTER AIDED CHEMICAL ENGINEERING*. Amsterdam: Elsevier, 2016. v. 39, p. 475–486. ISBN 9780444636836.

61. BORSATO, E.; TAROLLI, P.; MARINELLO, F. Sustainable Patterns of Main Agricultural Products Combining Different Footprint Parameters. *Journal of Cleaner Production*, v. 179, p. 357–367, 2018. DOI: [CrossRef].

- 62.** SAMANI, R.; POURSAEED, A. Cropping Pattern and Comparative Advantage of Agricultural Products in Ilam Province. *International Journal of Agricultural Management and Development*, v. 5, p. 235, 2015. DOI: [CrossRef].
- 63.** GREGORY, G.J. et al. Polyethylene Valorization by Combined Chemical Catalysis with Bioconversion by Plastic-Enriched Microbial Consortia. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 11, p. 3494–3505, 2023. DOI: [CrossRef].
- 64.** TASANARONG, P. et al. Reduction of Viable Bacteria in Dentinal Tubules Treated with a Novel Medicament (Z-Mix). *Journal of Dental Sciences*, v. 11, p. 419–426, 2016. DOI: [CrossRef].
- 65.** NASCIMENTO, W.C.A.D.; MARTINS, M.L.L. Studies on the Stability of Protease from *Bacillus* Sp. and Its Compatibility with Commercial Detergent. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, p. 307–311, 2006. DOI: [CrossRef].
- 66.** ADIGÜZEL, A.O.; TUNÇER, M. Purification and Characterization of Cutinase from *Bacillus* sp. KY0701 Isolated from Plastic Wastes. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, v. 47, p. 925–933, 2017. DOI: [CrossRef].
- 67.** LADEIRA, S.A. et al. Cellulase Production by Thermophilic *Bacillus* sp. SMIA-2 and Its Detergent Compatibility. *Electronic Journal of Biotechnology*, v. 18, p. 110–115, 2015. DOI: [CrossRef].
- 68.** DI PIETRANTONIO, T.; SCHURR, E. Host–Pathogen Specificity in Tuberculosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 783, p. 33–44, 2013.
- 69.** RUIZ-RODRIGUEZ, P. et al. Host-Strain Compatibility Influences Transcriptional Responses in *Mycobacterium tuberculosis* Infections. *bioRxiv*, 2024. DOI: [CrossRef].
- 70.** HARPER, S.J.; COWELL, S.J.; DAWSON, W.O. With a Little Help from My Friends: Complementation as a Survival Strategy for Viruses in a Long-Lived Host System. *Virology*, v. 478, p. 123–128, 2015. DOI: [CrossRef].
- 71.** DICK, C.W.; DITTMAR, K. Parasitic Bat Flies (Diptera: Streblidae and Nycteribiidae): Host Specificity and Potential as Vectors. In: *BATS (CHIROPTERA) AS VECTORS OF DISEASES AND PARASITES*. Berlin/Heidelberg: Springer, 2013. p. 131–155. ISBN 9783642393327.
- 72.** DU, D.; BAKER, D.D. Actinorhizal Host-Specificity of Chinese *Frankia* Strains. *Plant and Soil*, v. 144, p. 113–116, 1992. DOI: [CrossRef].
- 73.** ARIF, I.; BATOOL, M.; SCHENK, P.M. Plant Microbiome Engineering: Expected Benefits for Improved Crop Growth and Resilience. *Trends in Biotechnology*, v. 38,

p. 1385–1396, 2020.

74. ZHUANG, L. et al. Synthetic Community with Six *Pseudomonas* Strains Screened from Garlic Rhizosphere Microbiome Promotes Plant Growth. *Microbial Biotechnology*, v. 14, p. 488–502, 2020. DOI: [CrossRef].

75. MOHAN, S.M.; SUDHAKAR, P. Metagenomic Approaches for Studying Plant–Microbe Interactions. In: *UNDERSTANDING THE MICROBIOME INTERACTIONS IN AGRICULTURE AND THE ENVIRONMENT*. Singapore: Springer, 2022. p. 243–254. ISBN 9789811936951.

76. RAAIJMAKERS, J.M. The Minimal Rhizosphere Microbiome. In: *PRINCIPLES OF PLANT-MICROBE INTERACTIONS*. Berlin/Heidelberg: Springer, 2014. p. 411–417. ISBN 9783319085746.

77. YANG, S. et al. Emerging Pathways for Engineering the Rhizosphere Microbiome for Optimal Plant Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 71, p. 4441–4449, 2023.

78. OROZCO-MOSQUEDA, M.D.C. et al. Microbiome Engineering to Improve Biocontrol and Plant Growth-Promoting Mechanisms. *Microbiological Research*, v. 208, p. 25–31, 2018.

79. XIONG, W. et al. Microbial Amendments Alter Protist Communities within the Soil Microbiome. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 135, p. 379–382, 2019.

80. STAMENOV, D.R. et al. Influence of *Pseudomonas* and *Bacillus* Strains Isolated from *Lolium Perenne* Rhizospheric Soil in Vojvodina (Serbia) on Plant Growth and Soil Microbial Communities. *Polish Journal of Microbiology*, v. 66, p. 269–272, 2017.

81. PISHCHIK, V.N. et al. Influence of *Bacillus Subtilis* on the Physiological State of Wheat and the Microbial Community of the Soil under Different Rates of Nitrogen Fertilizers. *Eurasian Soil Science*, v. 48, p. 77–84, 2015.

82. TANG, C. et al. Response and Dynamic Change of Microbial Community during Bioremediation of Uranium Tailings by *Bacillus* sp. *Minerals*, v. 11, 967, 2021.

83. AMALRAJ, L.D. Effect of Polymeric Additives, Adjuvants, Surfactants on Survival, Stability and Plant Growth Promoting Ability of Liquid Bioinoculants. *Journal of Plant Physiology and Pathology*, v. 1, 2, 2013.

84. DEIVAMANI, M.; MUTHAMILAN, M. Studies on Shelf-Life of *Streptomyces* spp. in Different Carrier Materials. *International Journal of Processing and Post Harvest Technology*, v. 7, p. 16–20, 2016.

85. ROJAS-SÁNCHEZ, B. et al. Bioencapsulation of Microbial Inoculants: Mechanisms, Formulation Types and Application Techniques. *Applied Biosciences*, v. 1, p. 198–220, 2022.
86. RAMAZANIDOROH, F. et al. Edible Packaging as a Functional Carrier of Prebiotics, Probiotics, and Postbiotics to Boost Food Safety, Quality, and Shelf Life. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v. 16, p. 1327–1347, 2023.
87. ZABLOTOWICZ, R.M. et al. In-Furrow Spray as a Delivery System for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Other Rhizosphere-Competent Bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 37, p. 632–636, 1991.
88. WENG, J. et al. Enhanced Root Colonization and Biocontrol Activity of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by *AbrB* Gene Disruption. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 97, p. 8823–8830, 2012.
89. LIU, Y. et al. Plant Commensal Type VII Secretion System Causes Iron Leakage from Roots to Promote Colonization. *Nature Microbiology*, v. 8, p. 1434–1449, 2023.
90. SCHALLMEY, M.; WARD, O.P.; SINGH, A. Developments in the Use of *Bacillus* species for Industrial Production. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 50, p. 1–17, 2004. DOI: 10.3390

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content

CAPÍTULO 3 - Impacto da Dose de Fertilizante e da Concentração do Inóculo de *Bacillus subtilis* no Crescimento do Milho

RESUMO: A demanda crescente por sistemas agrícolas mais sustentáveis tem impulsionado a busca por alternativas ao uso intensivo de fertilizantes minerais na cultura do milho (*Zea mays* L.). Este estudo avaliou o potencial do *Bacillus subtilis* como microrganismo promotor de crescimento de plantas (MPCP), aplicado em diferentes concentrações (10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹), para reduzir a utilização de fertilizantes minerais sem comprometer o desempenho agrônomo da cultura. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e validados em condições de campo. No experimento inicial em vasos, foi adotado um delineamento experimental fatorial 5×3 (cinco doses de fertilizante × três níveis de inoculação), totalizando 15 tratamentos. As variáveis avaliadas incluíram massa seca da parte aérea e das raízes, teores de nitrogênio e fósforo, pigmentos fotossintéticos e produtividade de grãos. Os resultados indicaram que a inoculação com *B. subtilis*, especialmente na concentração de 10^9 UFC mL⁻¹, promoveu aumentos significativos na massa seca e no acúmulo de nutrientes, mesmo em condições de adubação reduzida. Em campo, o tratamento utilizando 25% da dose de fertilizante associado à aplicação de *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹) superou a adubação integral isolada em produtividade de grãos. Esses dados demonstram que a associação entre bioinoculante e a redução na dose de fertilizante pode manter ou até melhorar o desempenho da cultura do milho, representando um avanço em direção a uma agricultura mais eficiente e ambientalmente responsável.

Palavras-chave: fertilização reduzida; bioinoculante; nutrição vegetal; produtividade agrícola; sustentabilidade.

1 Introdução

A cultura do milho (*Zea mays* L.) ocupa uma posição estratégica na agricultura mundial e nacional devido à sua versatilidade e elevada produtividade. No Brasil, é uma das principais culturas alimentares e industriais, servindo como base para rações animais, consumo humano e produção de biocombustíveis, impulsionando diversas cadeias produtivas do agronegócio (De Rossi et al., 2022).

Para alcançar altos níveis de produtividade, a cultura do milho requer solos férteis e adubações intensivas com fertilizantes minerais (Notununu et al., 2022; Adeleke; Babalola; Glick, 2021). Embora esses insumos elevem significativamente o rendimento das lavouras, apresentam baixa eficiência de uso pelas plantas, resultando em perdas consideráveis para o ambiente. Esses impactos incluem custos elevados e consequências ecológicas negativas, como salinização do solo, eutrofização de corpos hídricos e emissões gasosas (Raya-Hernández et al., 2020; Zhao et al., 2022).

Diante desses desafios, torna-se urgente adotar estratégias que aumentem a eficiência na utilização dos nutrientes e reduzam a dependência de insumos químicos. O manejo adequado da adubação, com atenção à dose, ao momento e ao local de aplicação, pode mitigar parte dessas perdas (Omara et al., 2019; Salim; Raza, 2020; Rawal et al., 2022). Porém, inovações biotecnológicas, como o uso de microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCPs), surgem como alternativas promissoras para intensificar a sustentabilidade na agricultura.

Os MPCPs são capazes de melhorar o desempenho das culturas por meio de diversos mecanismos, como a solubilização de nutrientes, produção de fitormônios e aumento da tolerância a estresses bióticos e abióticos (Anjum et al., 2019; Gupta; Saxena, 2023). Entre esses microrganismos, o *Bacillus subtilis* destaca-se pela sua ampla aplicação agrícola e capacidade de colonizar a rizosfera. Trata-se de uma bactéria Gram-positiva, formadora de esporos, com reconhecida capacidade de solubilizar fósforo, fixar nitrogênio, produzir sideróforos e fitormônios vegetais (De Lima et al., 2022; Tahir et al., 2017; Milani et al., 2019). Essas características

favorecem o crescimento vegetal, até mesmo em condições de estresse nutricional, podendo substituir ou reduzir parcialmente a necessidade de adubação mineral convencional.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial do *Bacillus subtilis* em promover o crescimento de plantas de milho submetidas a diferentes doses de fertilizante mineral, testando variadas concentrações do inóculo bacteriano. Busca-se, assim, verificar se é possível manter ou aumentar o desempenho agrônômico das plantas mesmo com a redução da adubação mineral, contribuindo para a sustentabilidade da produção agrícola.

2. METODOLOGIA

2.1. Local de condução do experimento

O experimento foi inicialmente conduzido em casa de vegetação na Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Jaboticabal, localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo (21° 15' 22" S, 48° 18' 58" W, altitude de 605 m). O clima da região é do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen-Geiger, caracterizado por verões quentes e úmidos e invernos secos. A casa de vegetação foi mantida sob condições controladas, com temperatura média de 24 ± 2 °C, umidade relativa de $50 \pm 2\%$ e fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Utilizou-se Latossolo Vermelho eutroférico de textura argilosa. A cultivar utilizada foi o híbrido top-cross BRS 2107 de *Zea mays* L., desenvolvido pela Embrapa.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 5×3 , totalizando 15 tratamentos. O fator A correspondeu a cinco doses de fertilizante mineral (0, 25, 50, 75 e 100%), e o fator B a três níveis de inóculo de *Bacillus subtilis* (sem inoculação, 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹), com quatro repetições. O experimento teve duração de 60 dias.

Para validação em condições de campo, foram selecionados os tratamentos com melhor desempenho em acúmulo de biomassa. O ensaio foi instalado na

Fazenda de Ensino e Pesquisa da FCAV/UNESP, também em Jaboticabal (20°10'46,81" S, 48°17'07,85" W, altitude de 550 m). A cultivar utilizada foi a variedade AG8701 PRO 4 desenvolvida pela Agrocere e Bayer. Sistema de cultivo convencional, com as práticas agrícolas recomendadas para a cultura do milho. A condução no campo teve duração de 120 dias, do plantio até a fase reprodutiva.

2.2. Preparo dos vasos casa de vegetação

Foram utilizados vasos com capacidade de 5 dm³ (20 cm de altura × 22 cm de diâmetro), preenchidos com solo coletado na área experimental da própria instituição. O solo, previamente seco ao ar e peneirado (malha de 5 mm), apresentava as seguintes características químicas: pH 6,5; matéria orgânica de 11 g dm⁻³; P disponível de 20 mg dm⁻³; K de 0,7 mmolc dm⁻³; e Mg de 5,0 mmolc dm⁻³.

A adubação foi realizada com base na análise química do solo, conforme recomendações para cultivo em vasos (HERENCIA et al., 2007), sendo aplicados: 80 mg dm⁻³ de nitrogênio (ureia), 200 mg dm⁻³ de fósforo (superfosfato simples), 180 mg dm⁻³ de potássio (cloreto de potássio). Além dos macronutrientes, os seguintes micronutrientes foram adicionados: 0,5 mg dm⁻³ de boro (ácido bórico), 1,5 mg dm⁻³ de cobre (sulfato de cobre), 3,0 mg dm⁻³ de manganês (sulfato de manganês), 3,0 mg dm⁻³ de ferro (sulfato de ferro). Os tratamentos de fertilização foram realizados com base em 100% da adubação de referência, sendo ajustados para 0, 25, 50, 75 e 100% nas diferentes combinações experimentais.

2.3. Montagem do experimento em campo

Foram determinadas vinte oito parcelas de 58,5m² (6m x 5m), correspondentes a sete tratamentos que foram selecionados com quatro repetições cada tratamento, o espaçamento entre as plantas foi de 0,9m x 0,1m. a profundidade de semeadura do milho foi a mesma do experimento em vasos (5cm). Foram aplicados os mesmos nutrientes utilizados para casa de vegetação nas mesmas proporções, assim como os macronutrientes primários (N, P e K), fornecidos por adubação mineral de acordo com a análise química do solo, com redução de 75%, 50%, 25% e 0%.

2.4. Microrganismo e preparo do inóculo

O microrganismo utilizado foi uma cepa de *Bacillus subtilis*, isolada de plantas de milho, pertencente à coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Produção Vegetal da UNESP - FCAV, Jaboticabal. A cepa foi previamente caracterizada e teve sua sequência depositada no GenBank sob o número MZ133755. Para o preparo do inóculo, a cepa foi cultivada em caldo nutriente (60 mL por frasco Erlenmeyer de 125 mL) e incubada a 30 °C por 24 horas em cultura estática. Após esse período, a densidade celular foi padronizada por leitura espectrofotométrica a 630 nm. A contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) foi realizada por plaqueamento em meio sólido, permitindo ajustar a concentração para 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹.

2.5. Plantio e inoculações, casa de vegetação

As sementes utilizadas foram da cultivar híbrida top-cross BRS 2107, desenvolvida pela Embrapa. Três sementes foram semeadas por vaso contendo o solo previamente adubado. Após a emergência, realizou-se o desbaste, mantendo duas plantas por vaso. A inoculação com *B. subtilis* foi realizada em quatro aplicações consecutivas, com intervalo de sete dias, totalizando 10 mL por aplicação. Os tratamentos com inoculação receberam as concentrações de 10^4 ou 10^9 UFC mL⁻¹, enquanto o grupo controle não recebeu inóculo bacteriano. em campo foram 4 aplicações realizadas uma na emergência da planta e as outras a cada 10 dias.

2.6. Delineamento experimental

Em casa de vegetação, os vasos foram dispostos em blocos casualizados, com quinze tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos resultaram da combinação de cinco doses de fertilizante mineral (0, 25, 50, 75 e 100%) e três condições de inoculação bacteriana (sem inoculação, 10^4 UFC mL⁻¹ e 10^9 UFC mL⁻¹), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento conduzido em casa de vegetação.

Tratamento	Dose de fertilizante mineral (%)	Inoculação com <i>Bacillus subtilis</i> (UFC mL⁻¹)
F0B0	0	0
F0B4	0	10 ⁴
F0B9	0	10 ⁹
F25B0	25	0
F25B4	25	10 ⁴
F25B9	25	10 ⁹
F50B0	50	0
F50B4	50	10 ⁴
F50B9	50	10 ⁹
F75B0	75	0
F75B4	75	10 ⁴
F75B9	75	10 ⁹
F100B0	100	0
F100B4	100	10 ⁴
F100B9	100	10 ⁹

Ao todo quinze tratamentos, com 4 repetições cada. O experimento em casa de vegetação foi concluído e o grupo controle e outros 5 tratamentos avaliados foram selecionados para serem testados em campo. Os resultados considerados para o processo de seleção foi a matéria seca encontrados em parte aérea e raízes das plantas. As parcelas foram divididas em blocos casualizados, com 4 repetições. A lista de tratamentos selecionados pode ser observada na tabela 2.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento conduzido em campo.

Tratamento	Dose de fertilizante mineral (%)	Inoculação com <i>Bacillus subtilis</i> (UFC mL⁻¹)
1	0	0
2	100	0
3	25	10 ⁴
4	25	10 ⁹
5	50	10 ⁹
6	75	10 ⁹
7	100	10 ⁴

Ao todo sete tratamentos, com quatro repetições cada, totalizando 28 parcelas.

2.7. Variáveis avaliadas

2.7.1. Massa seca da parte aérea e das raízes

Parte aérea e raízes foram coletadas ao final dos experimentos conduzidos em casa de vegetação e em campo, utilizando-se três plantas por parcela, selecionadas aleatoriamente. As amostras foram lavadas em água corrente, secas com papel toalha, acondicionadas em sacos de papel e transferidas para estufa com circulação forçada de ar, mantida a 65 °C por 72 horas. Após a secagem, o material foi pesado em balança semianalítica para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA) e da massa seca das raízes (MSR).

2.7.2. Teores de nitrogênio e fósforo

Após a secagem, as amostras de parte aérea e raízes provenientes dos experimentos conduzidos em casa de vegetação e em campo foram moídas em moinho tipo Wiley. A quantificação do nitrogênio total foi realizada por digestão sulfúrica, seguida de titulação. Para o fósforo, utilizou-se digestão nítrico-perclórica, com leitura em espectrofotômetro. As análises seguiram os procedimentos descritos no Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes (PONS; GUTHRIE, 1946).

2.7.3. Teores de clorofilas e carotenoides

A quantificação dos pigmentos foi realizada com 0,025 g de massa fresca de folhas, coletadas a partir do penúltimo trifólio. As amostras foram transferidas para tubos contendo acetona a 80%, protegidos da luz com papel alumínio e mantidos em câmara fria (8 °C) até completa descoloração. As extrações foram conduzidas em triplicata. As leituras espectrofotométricas foram realizadas nos comprimentos de onda de 663 nm (clorofila a), 647 nm (clorofila b) e 470 nm (carotenoides). As concentrações foram calculadas conforme as equações descritas por Lichtenthaler (1987), sendo os resultados expressos em microgramas de pigmento por grama de massa fresca (µg/g).

2.7.4. Reisolamento dos isolados transformados

O reisolamento dos isolados de *Bacillus subtilis* foi realizado 60 dias após a semeadura, com o objetivo de verificar a colonização endofítica. Foram amostrados

raízes, caules e folhas, que foram separados e lavados em água corrente para remoção de solo aderido e impurezas superficiais. A desinfecção dos tecidos seguiu o protocolo descrito por Araújo et al. (2002b). Em condições assépticas, 0,5 g de tecido de cada órgão foram seccionados e macerados em 4,5 mL de solução salina estéril (NaCl a 0,1%).

As amostras foram submetidas a diluições seriadas, transferindo-se 1 mL da suspensão inicial para tubos contendo 9 mL de solução salina, totalizando 10^{-1} a 10^{-6} . Em seguida, os tubos foram submetidos a choque térmico em banho-maria a 80 °C por 10 minutos, seguido de resfriamento imediato em banho de gelo por 5 minutos, conforme metodologia proposta por Rothfuss, Bender e Conrad (1997), visando a seleção de esporos termorresistentes característicos do gênero *Bacillus*.

Posteriormente, 100 µL de cada diluição foram plaqueados em meio BHI suplementado com ampicilina (100 µg/mL). As placas foram incubadas a 28 °C, e a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) foi realizada após 24 e 48 horas.

2.7.5. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F, utilizando o software AgroEstat (Barbosa; Maldonado, 2015). Quando observada significância estatística ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Resultado casa de vegetação

3.1.1. Teor de Nitrogênio nas Raízes

O teor de nitrogênio nas raízes diferiu apenas no tratamento F0B9, correspondente à dose 0 de fertilizante associada à bactéria *Bacillus subtilis* (10^9 UFC

mL⁻¹). Os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre si ($p > 0,05$) (Figura 1).

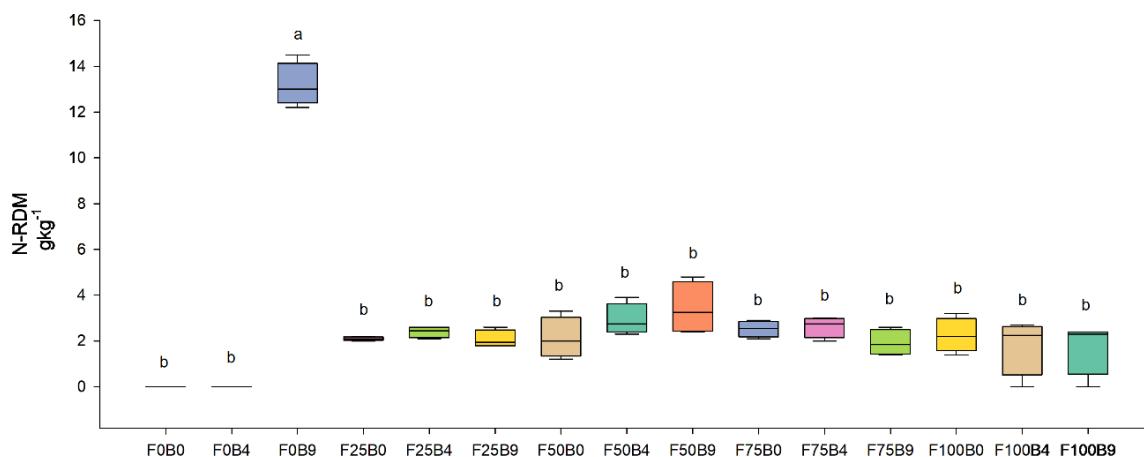


GRAFICO 1. Teor médio de nitrogênio em plantas de milho tratadas com diferentes doses de fertilizante mineral e com inoculação de *Bacillus subtilis* nas concentrações de 10⁴ e 10⁹ UFC mL⁻¹. As letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

3.1.2 Teor de nitrogênio na parte aérea

O teor de nitrogênio na massa seca da parte aérea (N-SDM) das plantas de soja cultivadas em casa de vegetação apresentou variações estatisticamente significativas entre os tratamentos, conforme demonstrado na Figura 2. O menor valor foi registrado no tratamento F0B0, caracterizado pela ausência de fertilização mineral e de inoculação bacteriana, o qual se destacou negativamente dos demais, compondo um grupo estatístico isolado (letra “c”).

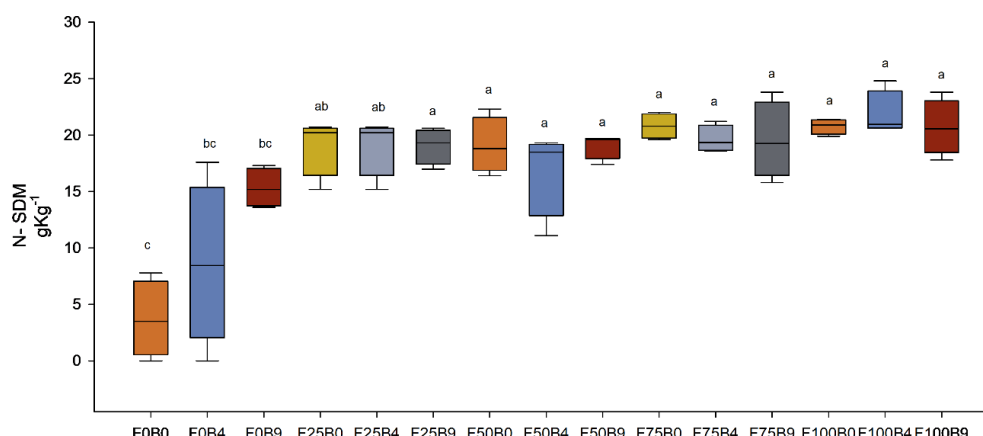


Gráfico 2. Teor médio de nitrogênio na parte aérea de plantas de milho tratadas com diferentes doses de fertilizante mineral e com inoculação de *Bacillus subtilis* nas concentrações de 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹. As letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

A inoculação com *Bacillus subtilis*, mesmo sem a presença de fertilizante (F0B4 e F0B9), promoveu aumentos discretos no acúmulo de nitrogênio, embora esses tratamentos ainda tenham permanecido em patamares significativamente inferiores em comparação aos demais, sendo agrupados no grupo “bc”. A aplicação de 25% da dose recomendada de fertilizante mineral (F25B0 e F25B4) resultou em incremento nos teores de nitrogênio, com ambos os tratamentos pertencentes ao grupo intermediário “ab”.

Os maiores valores de N-SDM foram observados nos tratamentos que associaram a inoculação de *B. subtilis* na concentração de 10^9 UFC mL⁻¹ à aplicação de fertilizante mineral a partir de 25% da dose recomendada, especialmente no tratamento F25B9, além de todos os demais tratamentos com fertilização mineral igual ou superior a 50%, independentemente da presença ou ausência do inoculante. Esses resultados, agrupados na letra “a”, indicam que a combinação de *B. subtilis* com fertilização mineral parcial ou total proporciona um incremento significativo na assimilação de nitrogênio pela parte aérea da soja. Teor de fósforo em plantas da parte de raiz do milho

Os resultados obtidos para o teor médio de fósforo na massa seca das raízes (P-RDM) de plantas de milho revelaram variação significativa entre os tratamentos

estados em casa de vegetação (Figura 3). Os menores teores foram observados nos tratamentos F0B0 e F0B4, ambos sem aplicação de fertilizante mineral (0%) e com ausência ou baixa concentração do inoculante bacteriano (*B. subtilis* a 10^4 UFC mL⁻¹), sendo estatisticamente agrupados na letra “c”. O tratamento F0B9, embora tenha recebido a maior concentração de inoculante (10^9 UFC mL⁻¹), também foi incluído no grupo “c”, indicando que a ausência de fertilização mineral limitou a absorção de fósforo pelas plantas.

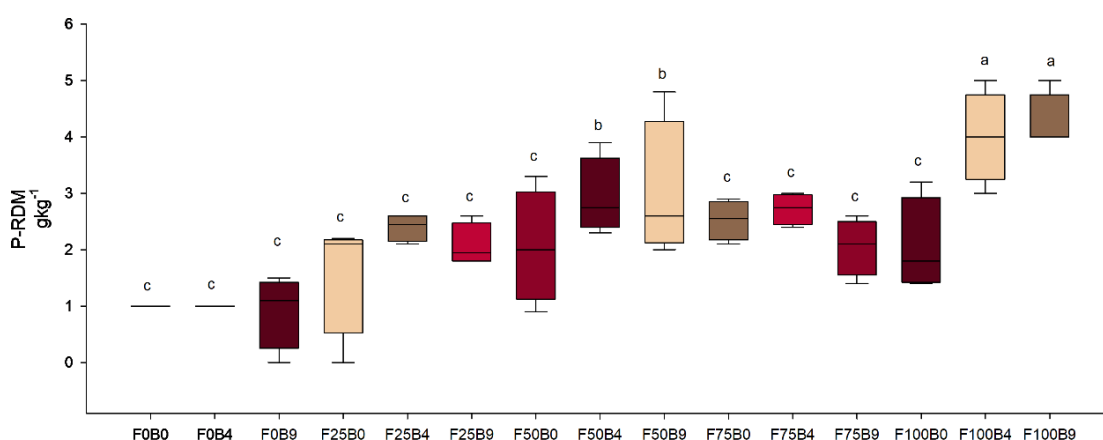


GRÁFICO 3. Boxplot do teor médio de fósforo em plantas de milho submetidas a diferentes doses de fertilizante e à inoculação com *Bacillus subtilis* nas concentrações de 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹. As letras distintas sobre as barras indicam diferença significativa entre os tratamentos, conforme o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

A adição de 25% de fertilizante (F25B0, F25B4 e F25B9) promoveu aumento modesto no teor de fósforo, porém os três tratamentos ainda permaneceram no grupo estatístico “c”, o que demonstra que a baixa dose isolada ou associada à inoculação não foi suficiente para promover diferenças significativas em relação ao controle. Com a aplicação de 50% de fertilizante, observou-se um padrão distinto: o tratamento F50B4 apresentou incremento expressivo no P-RDM, sendo agrupado na letra “b”, o que evidencia o efeito positivo da inoculação com *B. subtilis* a 10^4 UFC mL⁻¹ nessa dose. O tratamento F50B9, por sua vez, alcançou o maior valor de P-RDM dentro dessa faixa de fertilização e também foi incluído no grupo “b”. O tratamento F50B0 (sem inoculação) manteve-se no grupo “c”.

Tratamentos com 75% da dose de fertilizante (F75B0, F75B4 e F75B9) não

apresentaram acréscimos relevantes no teor de fósforo, permanecendo todos no grupo “c”. Isso sugere que, nesta condição, a inoculação bacteriana não foi suficiente para aumentar a disponibilidade de fósforo. Os maiores teores de fósforo foram verificados nos tratamentos F100B4 e F100B9, que receberam 100% da dose recomendada de fertilizante combinada com *B. subtilis* a 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹, respectivamente.

Ambos os tratamentos foram estatisticamente superiores aos demais, compondo o grupo “a”, o que demonstra o efeito sinérgico entre a fertilização plena e a inoculação bacteriana na promoção da absorção de fósforo pelas plantas de milho. O tratamento F100B0, mesmo com fertilizante em dose máxima, foi incluído no grupo “c”, indicando que a presença do inoculante foi determinante para o aumento da eficiência nutricional.

3.1.3 Teor de fósforo na parte aérea

A avaliação do teor médio de fósforo na parte aérea das plantas de milho revelou variação significativa entre os tratamentos, conforme demonstrado pelo teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade (Figura 4). Os menores teores foram observados nos tratamentos F0B0 (sem fertilizante e sem inoculação) e F0B4 (sem fertilizante e com inoculação a 10^4 UFC mL⁻¹), agrupados estatisticamente nas letras “c” e “bc”, respectivamente, indicando limitação severa na absorção de fósforo na ausência de adubação mineral.

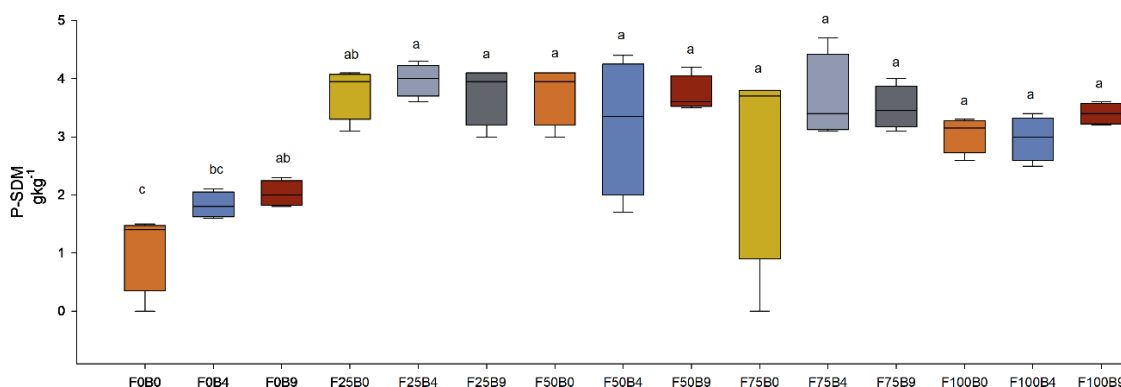


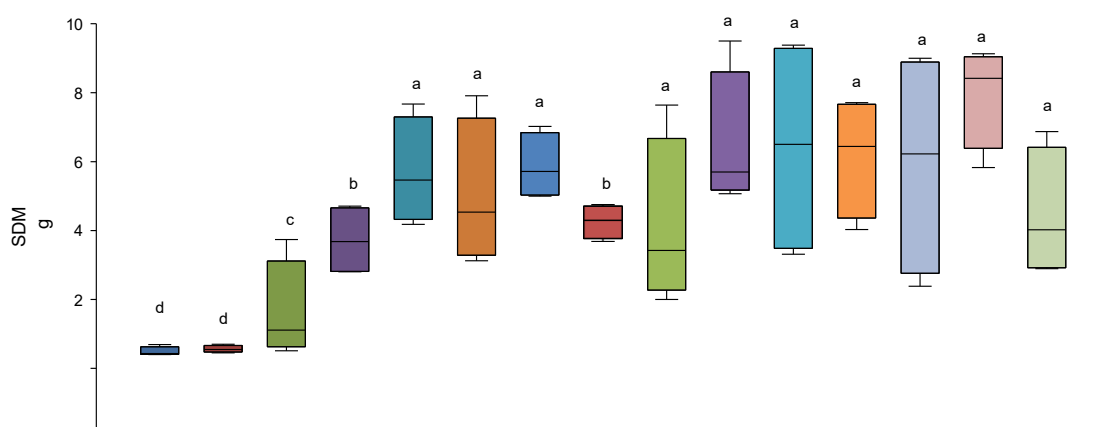
GRÁFICO. 4 Boxplot do teor médio de fósforo na parte aérea de plantas de milho

submetidas a diferentes doses de fertilização e à inoculação com *Bacillus subtilis* nas concentrações de 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹. As letras distintas sobre as barras indicam diferença significativa entre os tratamentos, conforme o teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

A inoculação com *B. subtilis* a 10^9 UFC mL⁻¹, mesmo sem fertilizante (F0B9), resultou em aumento significativo do fósforo na parte aérea, sendo agrupado com os tratamentos F25B0 (25% de fertilizante, sem inoculação), ambos pertencentes ao grupo "ab". Esse resultado destaca o potencial do inoculante em melhorar a absorção de fósforo mesmo em condições de baixa disponibilidade mineral.

Todos os demais tratamentos incluindo os com 25%, 50%, 75% e 100% da dose de fertilizante mineral, com ou sem inoculação bacteriana apresentaram os maiores valores médios de P-SDM e foram agrupados estatisticamente na letra "a". Isso sugere que, a partir de 25% da dose de fertilizante, a absorção de fósforo pelas plantas se estabiliza em patamares superiores, com ou sem o uso do inoculante. É importante ressaltar que, embora os tratamentos F50B9 e F75B0 tenham apresentado maior variabilidade nos dados, seus valores médios permaneceram dentro do grupo "a", demonstrando consistência no desempenho dos tratamentos com fertilização mineral. Teor de massa seca da parte aérea

A massa seca da parte aérea das plantas de milho apresentou variação significativa entre os tratamentos (Figura 5), conforme identificado pelo teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade. Os tratamentos F0B0 e F0B4, ambos sem aplicação de fertilizante e sem inoculação (ou com inoculação a 10^4 UFC mL⁻¹), apresentaram os menores valores de SDM, formando um grupo estatístico isolado ("d"). O tratamento F0B9, com inoculação de *B. subtilis* a 10^9 UFC mL⁻¹ mas sem fertilização, apresentou incremento discreto na biomassa, sendo incluído no grupo "c".



0

F0B0 F0B4 F0B9 F25B0 F25B4 F25B9 F50B0 F50B4 F50B9 F75B0 F75B4 F75B9 F100B0 F100B4 F100B9

GRÁFICO 5. Boxplot das médias da massa seca da parte aérea de plantas de milho submetidas a diferentes doses de fertilização e à inoculação com *Bacillus subtilis* nas concentrações de 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹. As letras distintas sobre as barras indicam diferença significativa entre os tratamentos, conforme o teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Com o fornecimento de 25% de fertilizante mineral (F25B0, F25B4 e F25B9), houve aumento significativo da biomassa aérea, especialmente nos tratamentos com inoculação, os quais foram agrupados no grupo estatístico "a", indicando elevada eficiência na promoção de crescimento vegetal. O tratamento F25B0 (sem inoculação) manteve-se no grupo "b", evidenciando a contribuição do inoculante para esse ganho.

Nas doses de 50% e 75% de fertilizante, os tratamentos inoculados (F50B9, F75B0, F75B4 e F75B9) também apresentaram elevada SDM, todos pertencentes ao grupo "a", indicando que tanto a fertilização parcial quanto a inoculação são estratégias eficazes para o aumento da biomassa aérea. Já os tratamentos F50B0 e F50B4 apresentaram valores medianos e foram incluídos no grupo "b".

Por fim, os tratamentos com 100% da dose de fertilizante apresentaram, em geral, os maiores valores de SDM. Tanto F100B4 quanto F100B9 foram agrupados em "a", enquanto F100B0 ficou estatisticamente semelhante (também grupo "a"), demonstrando que, na fertilização plena, a inoculação não promoveu ganho adicional significativo na massa seca da parte aérea.

3.1.4 Massa seca de raízes de plantas de milho

A massa seca de raízes de plantas de milho variou significativamente entre os tratamentos, conforme indicado pelo teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade (Figura 6). Os menores valores foram registrados nos tratamentos F0B0 e F0B4, ambos sem aplicação de fertilizante mineral e com ou sem inoculação de *B. subtilis*, compondo o grupo estatístico "d".

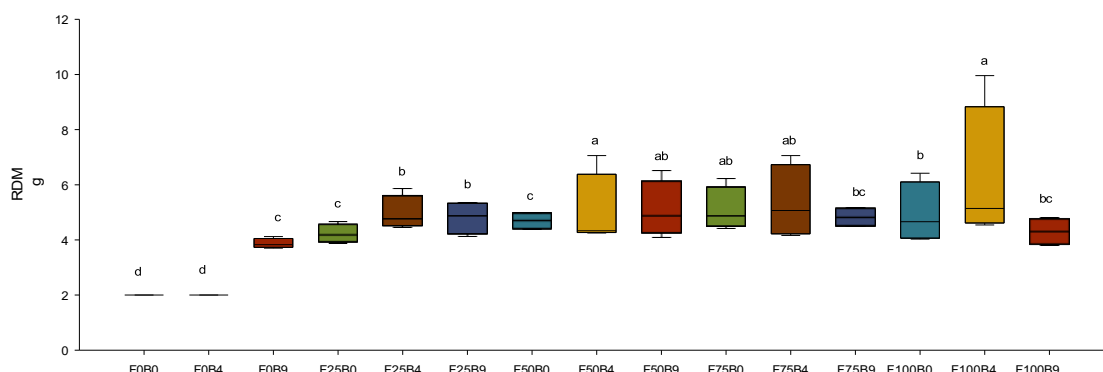


GRÁFICO 6. Boxplot das médias da massa seca de raízes de plantas de milho submetidas a diferentes doses de fertilização e à inoculação com *Bacillus subtilis* nas concentrações de 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹. As letras distintas sobre as barras indicam diferença significativa entre os tratamentos, conforme o teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

O tratamento F0B9, que recebeu inoculação com a maior concentração do inoculante (10^9 UFC mL⁻¹) mas ainda sem fertilizante, apresentou leve incremento na biomassa radicular, situando-se no grupo “c”. O início da resposta positiva ao fertilizante foi observado nos tratamentos com 25% da dose (F25B0 e F25B4), ambos agrupados em “b”. O tratamento F25B9, com a mesma dose de fertilizante e inoculação a 10^9 UFC mL⁻¹, mostrou resposta inferior e permaneceu no grupo “c”.

Os tratamentos com 50% de fertilizante (F50B0, F50B4 e F50B9) resultaram em variações relevantes: F50B0 manteve-se no grupo “c”, enquanto F50B4 alcançou o grupo “a”, com o maior valor observado até então. O F50B9 ficou no grupo “ab”, refletindo desempenho intermediário.

Entre os tratamentos com 75% da dose de fertilizante, todos (F75B0, F75B4 e F75B9) mostraram massas secas de raiz elevadas, com F75B0 e F75B4 no grupo “ab” e F75B9 no grupo “bc”, o que evidencia que a inoculação nem sempre proporcionou ganho adicional dentro dessa faixa.

Os maiores valores médios de RDM foram verificados no tratamento F100B4 (100% de fertilizante + inoculação a 10^4 UFC mL⁻¹), que foi estatisticamente superior a todos os demais, formando o grupo “a”. Em contraste, F100B0 e F100B9 foram agrupados no grupo “bc”, sugerindo que a presença do inoculante em concentração

intermediária teve efeito positivo mais expressivo que a inoculação em 10^9 UFC mL⁻¹ ou mesmo a ausência de inoculante.

3.1.5 Carotenoide Clorofila A e B

Os teores de clorofila total, clorofila a e clorofila b nas folhas de milho variaram significativamente em função dos tratamentos combinando diferentes doses de fertilizante mineral (0%, 25%, 50%, 75% e 100% da dose recomendada) e concentrações de *Bacillus subtilis* (ausente, 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹), conforme apresentado na Figura 7.

Para a clorofila total, os menores valores foram observados no tratamento F0B0 (sem fertilização e sem inoculação bacteriana), indicando a limitação fisiológica imposta pela ausência de insumos. À medida que se aumentaram os níveis de fertilizante ou se adicionou o inoculante bacteriano, os teores de clorofila total aumentaram progressivamente. O tratamento F100B9 (100% de fertilizante + 10^9 UFC mL⁻¹ de *Bacillus subtilis*) apresentou os maiores valores, seguido por F75B9 e F50B9, sugerindo uma atuação sinérgica entre nutrição mineral e estímulo microbiano.

A clorofila a pigmento predominante na fotossíntese, seguiu padrão semelhante, com destaque para os tratamentos F75B9 e F100B9, que proporcionaram maiores acúmulos. O tratamento F25B0, por outro lado, apresentou resposta intermediária, sugerindo que a fertilização parcial sem inoculante não é suficiente para maximizar a síntese de pigmentos fotossintéticos.

No caso da clorofila b, os teores também foram superiores nos tratamentos combinados, especialmente em F75B9 e F100B9. Como esse pigmento atua na ampliação do espectro de luz absorvível, seu aumento reflete uma adaptação do sistema fotossintético a condições mais favoráveis de desenvolvimento.

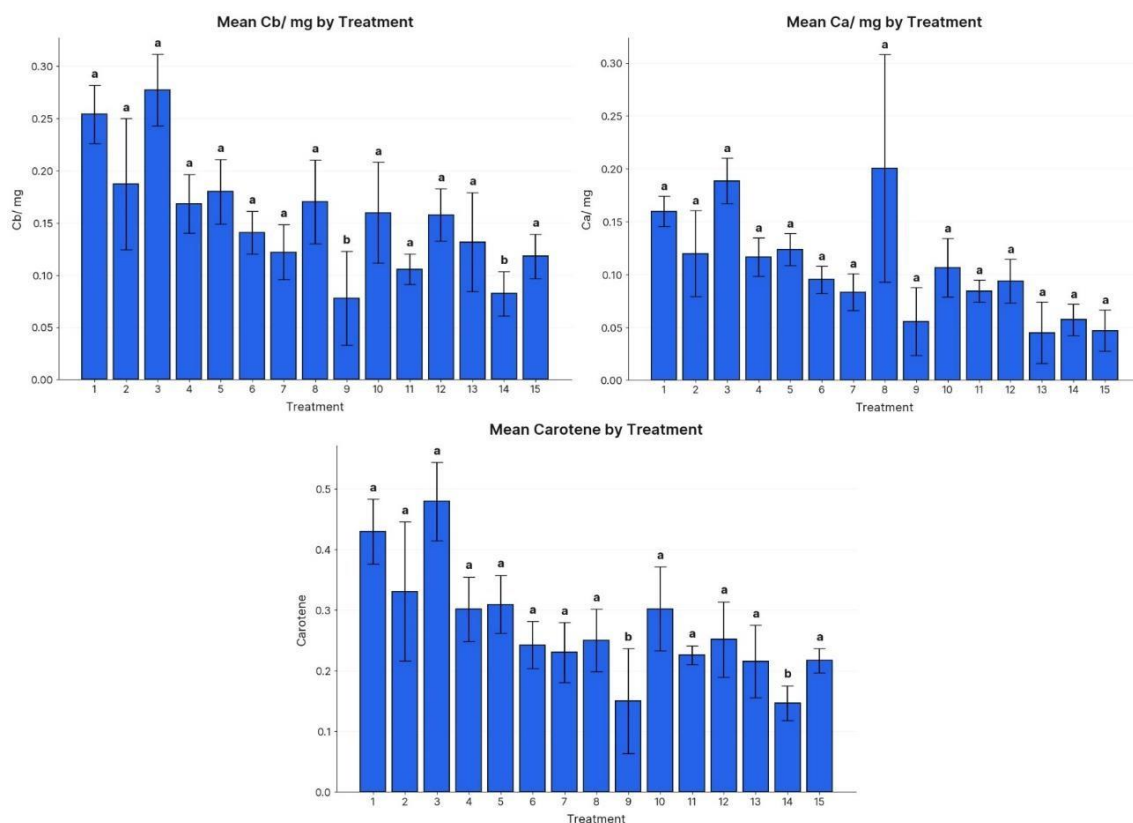


GRÁFICO 7. Conteúdo de clorofila total (a), clorofila a (b) e clorofila b (c) nas folhas de milho (*Zea mays* L.) sob diferentes tratamentos com fertilizante e inoculação bacteriana. Os dados representam a média $\pm$ desvio padrão de replicatas independentes. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

3.1.6 Reisolamento de *Bacillus subtilis*

A análise da colonização bacteriana nos tecidos das plantas de soja revelou variação expressiva entre os tratamentos e órgãos avaliados (Figura X). As raízes apresentaram os maiores níveis de recuperação de células viáveis, com valores máximos de 6,40, 6,28 e 5,99 $\log_{10}(\text{CFU} + 1) \text{ g}^{-1}$ nos tratamentos 2, 3 e 9, respectivamente. Esses resultados indicam que os tratamentos que associaram altas doses de inoculante bacteriano à adubação mineral parcial favoreceram a persistência e multiplicação de *Bacillus subtilis* na rizosfera.

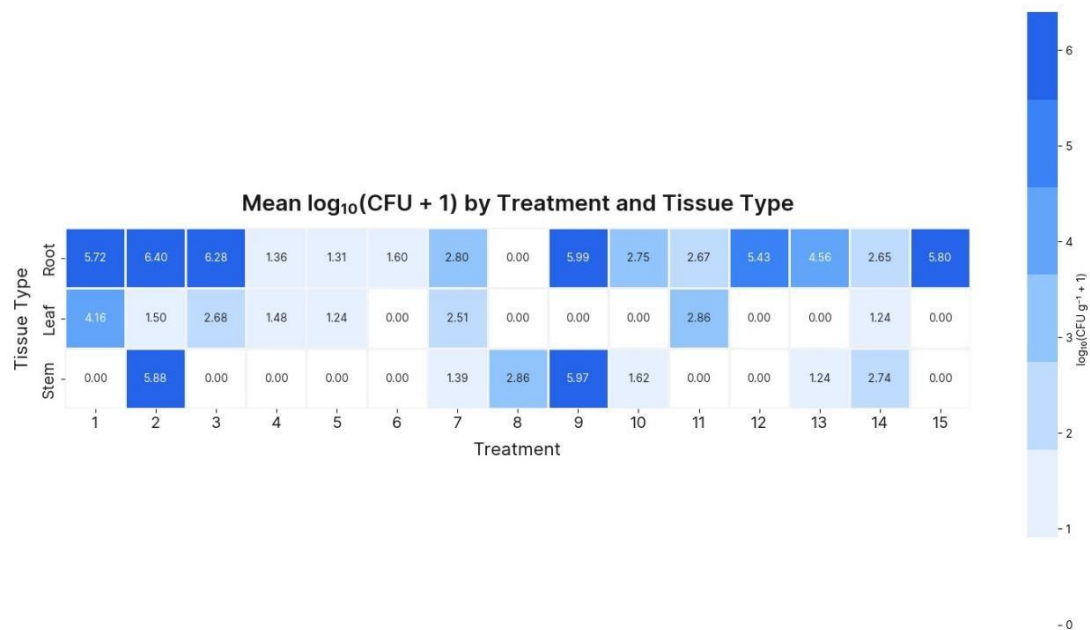


GRÁFICO 8. Colonização tecidual por *Bacillus subtilis* em plantas de soja submetidas a diferentes tratamentos, expressa como média de log₁₀(CFU + 1) por grama de tecido fresco. A coloração indica a intensidade da colonização nos diferentes compartimentos da planta (raiz, folha e caule). As variações observadas entre os tratamentos refletem a eficiência de colonização do microrganismo em função da dose de inoculante e da adubação mineral aplicada.

Nas folhas, a presença de bactérias viáveis foi mais restrita, sendo detectada em níveis moderados apenas nos tratamentos 1, 3 e 11, com valores entre 2,68 e 4,16 log₁₀(CFU + 1). A baixa recuperação nos demais tratamentos podem estar relacionada à menor capacidade de translocação do microrganismo para os tecidos aéreos ou à competição com a microbiota epifítica nativa.

No caule, a colonização foi observada principalmente nos tratamentos 2, 9 e 8, com valores de até 5,97 log₁₀(CFU + 1), sugerindo um possível deslocamento sistêmico do microrganismo em condições favoráveis. A ausência total de colonização em alguns tratamentos (ex: 4, 5, 6 e 12) reforça o papel da dose de inoculante e da adubação na viabilidade e movimentação do microrganismo na planta.

3.2 Resultado campo

3.2.1 Massa seca da parte aérea por planta

A análise da massa seca da parte aérea por planta (SDM) revelou diferenças significativas entre os tratamentos avaliados (Figura 7). O tratamento 4, correspondente à aplicação de 25% da dose de fertilizante mineral associada à inoculação com *Bacillus subtilis* na concentração de 10^9 UFC mL^{-1} (25% A + B109), apresentou o maior acúmulo de biomassa, superando estatisticamente todos os demais tratamentos, inclusive o tratamento 2 (100% A + 0% B), que representa a adubação mineral plena sem inoculação.

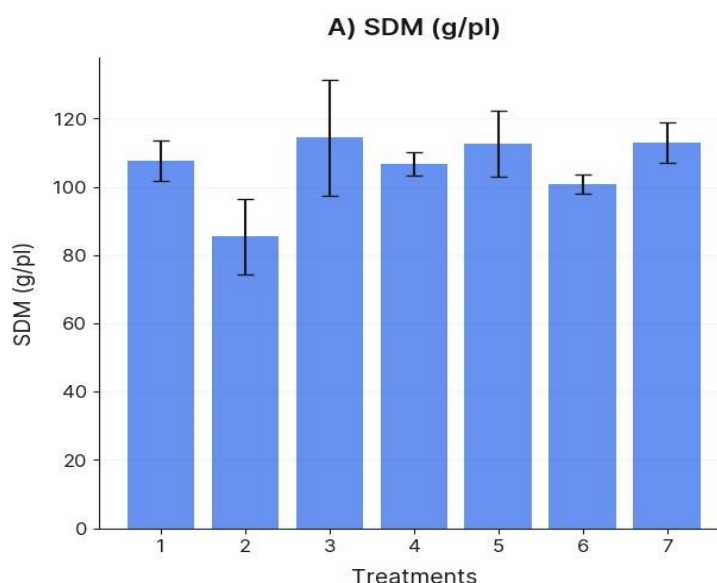


GRÁFICO 9. Massa seca da parte aérea (g/planta) de plantas de milho cultivadas em campo, tratadas com diferentes doses de fertilizante mineral e inoculação com *Bacillus subtilis*. T1=0% adubo + 0% *B. subtilis* (controle); T2 = 100% adubo + 0% *B. subtilis*; T3 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL^{-1}); T4 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T5 = 50% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T6 = 75% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T7 = 100% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL^{-1}).

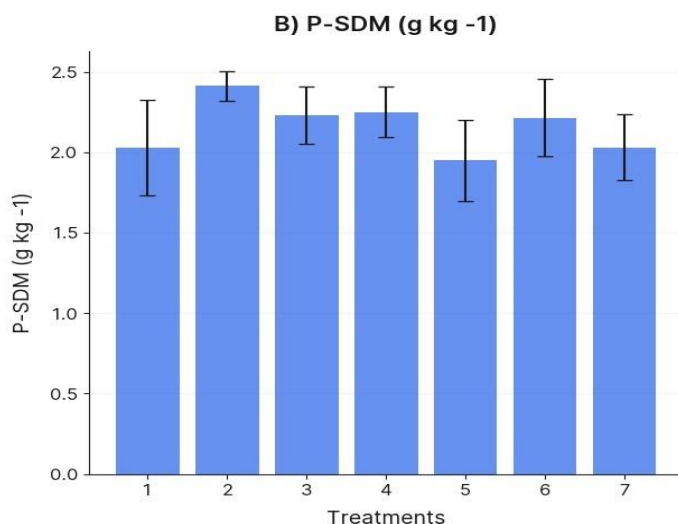
Embora o tratamento 2 também tenha alcançado elevado valor médio de SDM, observou-se maior variabilidade entre as repetições, o que pode indicar menor estabilidade da resposta fisiológica à adubação isolada. Os tratamentos 5 (50% A + B109) e 3 (25% A + B104) apresentaram valores intermediários de biomassa, sugerindo que concentrações mais baixas do inoculante ou da adubação são capazes de sustentar um crescimento razoável das plantas, porém com menor eficiência em comparação ao tratamento 4.

Em contrapartida, os tratamentos 6 e 7, que receberam 75% e 100% da dose

de fertilizante mineral combinada à inoculação com *B. subtilis* (B109 e B104, respectivamente), não demonstraram desempenho superior ao tratamento 4, destacando-se como opções menos eficientes dentro das combinações testadas. O menor valor de biomassa foi observado no tratamento 1 (0% A + 0% B), evidenciando a limitação fisiológica imposta pela ausência total de fertilização e inoculação, e reforçando o papel sinérgico entre o fertilizante e o bioinoculante para o desenvolvimento da parte aérea da soja.

3.2.2 Concentração de fósforo na massa seca

A maior concentração de fósforo na massa seca (P-SDM) foi observada no tratamento 2 (100% A + 0% B), como pode ser observado na (figura 8) indicando a eficácia da adubação mineral na absorção de fósforo pelas plantas. Os tratamentos 1 (0% A + 0% B), 3 (25% A + B104) e 4 (25% A + B109) também apresentaram valores elevados e próximos entre si, sugerindo que os inoculantes podem auxiliar na absorção de fósforo mesmo com menor dose de fertilizante. Já os tratamentos 5, 6 e



7 apresentaram menores valores de P-SDM, com destaque negativo para o tratamento 7 (100% A + B104), que apresentou o menor valor de fósforo acumulado biomassa.

GRÁFICO 10. Teor de fósforo na massa seca da parte aérea (g/kg) de plantas de milho cultivadas em campo, sob diferentes doses de fertilizante mineral e inoculação

com *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* T1=0% adubo + 0% *B. subtilis* (controle); T2 = 100% adubo + 0% *B. subtilis*; T3 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL⁻¹); T4 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T5 = 50% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T6 = 75% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T7 = 100% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL⁻¹).

3.2.4. Concentração de nitrogênio na massa seca

No experimento conduzido em campo, o teor de nitrogênio acumulado na massa seca da parte aérea (N-SDM) apresentou variações expressivas entre os tratamentos, conforme ilustrado na Figura 9. O maior acúmulo de nitrogênio foi observado no tratamento 2 (100% de adubação mineral sem inoculação – 100% A + 0% B), seguido pelo tratamento 1 (sem fertilizante e sem inoculante – 0% A + 0% B).

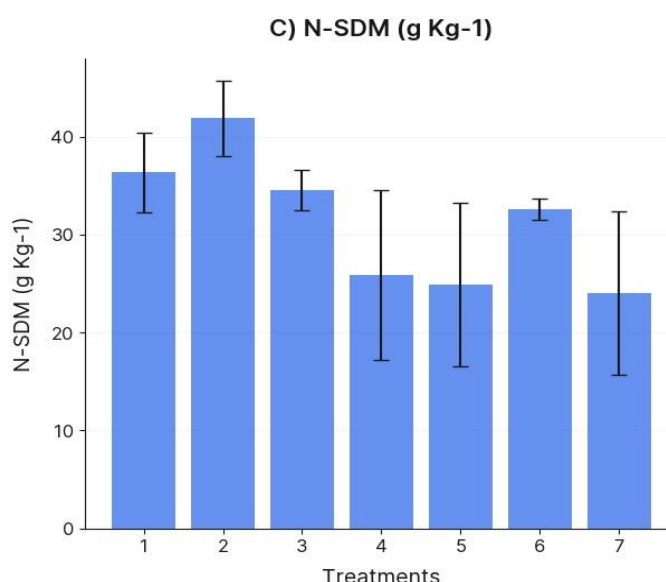


GRÁFICO 11. Teor de nitrogênio na massa seca da parte aérea (g/kg) de plantas de milho submetidas a diferentes combinações de adubação mineral e inoculação com *Bacillus subtilis*. . *Bacillus subtilis* T1=0% adubo + 0% *B. subtilis* (controle); T2 = 100% adubo + 0% *B. subtilis*; T3 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL⁻¹); T4 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T5 = 50% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T6 = 75% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T7 = 100% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL⁻¹).

O maior acúmulo de nitrogênio na massa seca (N-SDM) foi verificado no tratamento 2 (100% A + 0% B), seguido pelo tratamento 1 (0% A + 0% B). Em contrapartida, todos os tratamentos que receberam inoculantes (3 a 7) apresentaram menor acúmulo de nitrogênio, com os menores valores registrados nos tratamentos 5, 6 e 7. Isso sugere que, neste experimento de campo, o uso de *B. subtilis*, nas

condições testadas, não favoreceu o acúmulo de nitrogênio na parte aérea do milho, sendo a adubação mineral isolada mais eficaz nesse parâmetro.

3.2.5. Teor de nitrogênio nos grãos

A avaliação do teor de nutrientes acumulados nos grãos (NG) evidenciou diferenças significativas entre os tratamentos aplicados, conforme demonstrado na Figura 10. O tratamento 4, que combinou 25% da dose recomendada de fertilizante mineral com a inoculação de *Bacillus subtilis* na concentração de 10^9 UFC mL⁻¹ (25% A + B109), apresentou o maior teor de nutrientes nos grãos, destacando-se dos demais e indicando o potencial da interação entre adubação reduzida e bioinoculação para a timização da qualidade nutricional dos grãos.

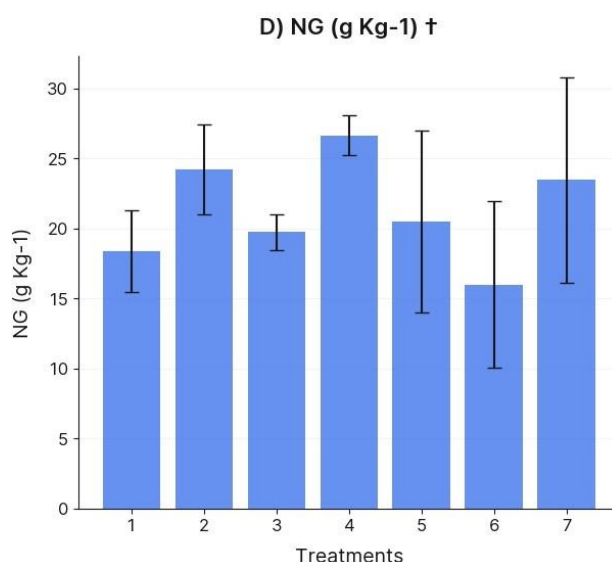


GRÁFICO 12. Teor de nitrogênio nos grãos (g/kg) de milho cultivado em campo, tratado com diferentes doses de fertilizante mineral e *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* T1=0% adubo + 0% *B. subtilis* (controle); T2 = 100% adubo + 0% *B. subtilis*; T3 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL⁻¹); T4 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T5 = 50% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T6 = 75% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹); T7 = 100% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL⁻¹).

Tratamentos como o 3 (25% A + B104) e o 5 (50% A + B109) também apresentaram teores expressivos, sugerindo que combinações equilibradas entre doses intermediárias de fertilizante e concentrações adequadas do inoculante podem ser eficazes na manutenção da qualidade nutricional da produção.

Por outro lado, os menores valores de acúmulo de nutrientes nos grãos foram

observados nos tratamentos 6 (75% A + B109) e 1 (0% A + 0% B), representando, respectivamente, uma combinação de alta adubação com inoculante e ausência total de insumos. Esses resultados indicam que tanto a ausência de fertilização quanto o excesso de nutrientes combinados à inoculação podem limitar o acúmulo eficiente de nutrientes nos grãos, possivelmente devido a desequilíbrios fisiológicos ou à supressão de respostas benéficas promovidas pelo inoculante.

3.2.6 Peso de 100 grãos

O maior peso de 100 grãos (WTG) foi observado no tratamento 7 (100% A + B104), indicando que a combinação de adubação completa com *B. subtilis* 10^4 UFC mL^{-1} favoreceu a formação de grãos mais pesados. O tratamento 4 (25% A + B109) também apresentou excelente desempenho, reforçando a eficiência dessa combinação. Os menores pesos foram registrados nos tratamentos 1 (0% A + 0% B) e 2 (100% A + 0% B), demonstrando que a inoculação com *Bacillus subtilis* foi determinante para o aumento do peso dos grãos.

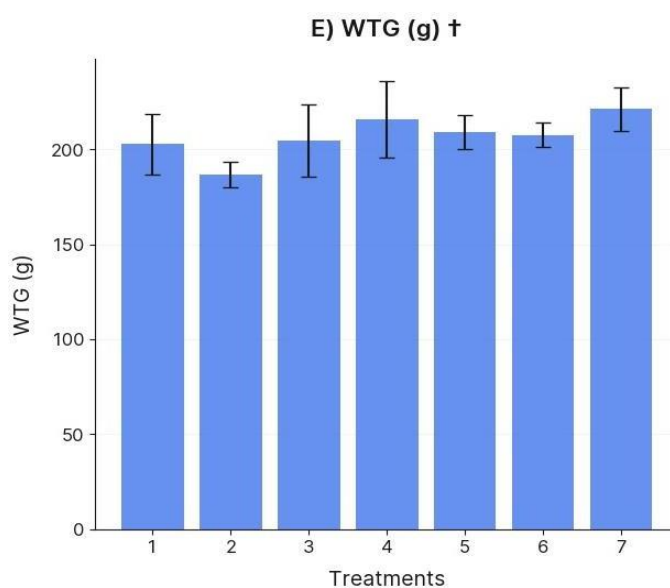


GRÁFICO 13. Massa de mil grãos (g) de milho cultivado em campo, sob diferentes combinações de fertilizante mineral e inoculação com *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* T1=0% adubo + 0% *B. subtilis* (controle); T2 = 100% adubo + 0% *B. subtilis*; T3 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL^{-1}); T4 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T5 = 50% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T6 = 75% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T7 = 100% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL^{-1}).

3.2.7. Produtividade total por hectare

A produtividade de grãos por hectare (PROD.) variou entre os tratamentos, conforme apresentado na Figura 12. Os maiores valores de produtividade foram observados nos tratamentos 4 (25% de adubação mineral + *Bacillus subtilis* 10^9 UFC mL^{-1}) e 7 (100% de adubação mineral + *B. subtilis* 10^4 UFC mL^{-1}), ambos superando significativamente o controle e os tratamentos que utilizaram exclusivamente a adubação mineral sem inoculação bacteriana.

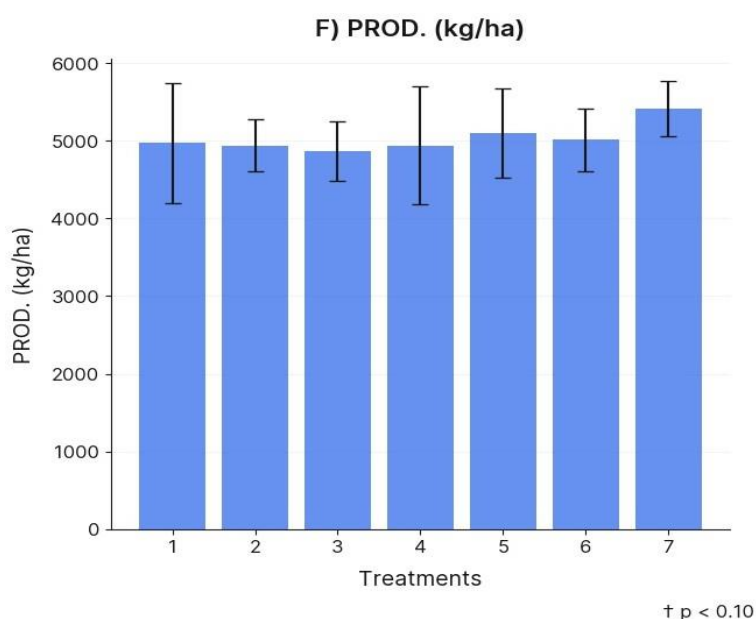


GRÁFICO 14. Produtividade de grãos (kg/ha) de milho cultivado em campo, tratado com diferentes doses de fertilizante mineral e inoculação com *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* T1=0% adubo + 0% *B. subtilis* (controle); T2 = 100% adubo + 0% *B. subtilis*; T3 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL^{-1}); T4 = 25% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T5 = 50% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T6 = 75% adubo + *B. subtilis* (10^9 UFC mL^{-1}); T7 = 100% adubo + *B. subtilis* (10^4 UFC mL^{-1}).

O tratamento 6 (75% A + B109) também apresentou desempenho produtivo satisfatório, demonstrando que a inoculação bacteriana, mesmo associada a doses intermediárias de fertilizante, pode contribuir positivamente para o rendimento da cultura. Em contraste, o menor valor de produtividade foi registrado no tratamento 3 (25% A + B104), sugerindo que a combinação de baixa adubação com inoculação em concentração reduzida não foi suficiente para sustentar a produtividade em condições de campo.

Esses dados reforçam a eficácia de estratégias integradas que associam bioinoculantes à redução parcial ou ao uso pleno de fertilizantes minerais, indicando que *B. subtilis* pode atuar como agente promotor de produtividade em diferentes regimes nutricionais.

4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no experimento conduzido em casa de vegetação demonstram que a inoculação com *Bacillus subtilis* exerceu efeitos diferenciados sobre a absorção e acúmulo de nutrientes, particularmente nitrogênio e fósforo, nas plantas de milho. A variação observada no teor de nitrogênio nas raízes, destacando-se o tratamento com ausência total de fertilização associada à inoculação bacteriana em alta concentração (10^9 UFC mL⁻¹), confirma o potencial do microrganismo em melhorar a eficiência de absorção de nitrogênio mesmo sob condições limitantes de disponibilidade nutricional.

Esses resultados são corroborados por estudos recentes como os de Zhang et al. (2025) e Rahman et al. (2024), que atribuem tais efeitos à capacidade das cepas de *Bacillus* em aumentar a atividade enzimática relacionada à fixação biológica de nitrogênio e ao estímulo ao crescimento radicular.

Na parte aérea, o incremento significativo do teor de nitrogênio em plantas que receberam doses parciais de fertilização ($\geq 25\%$) combinadas à inoculação com *B. subtilis* (10^9 UFC mL⁻¹) sugere um efeito sinérgico entre fertilizantes minerais e inoculantes microbianos. Estudos recentes reforçam esses achados, indicando que a inoculação bacteriana otimiza a utilização de nitrogênio disponível, maximizando seu aproveitamento pela planta e, conseqüentemente, aumentando a biomassa aérea (Deng et al., 2024; Guo et al., 2025).

Esses efeitos são frequentemente relacionados à produção de fitormônios por bactérias do gênero *Bacillus*, especialmente auxinas e citocininas, que influenciam positivamente a morfogênese e desenvolvimento das plantas (Moraes et al., 2023).

Quanto ao fósforo, resultados semelhantes foram observados, particularmente

na absorção pelas raízes. Os tratamentos que combinaram altas doses de fertilizante com a inoculação bacteriana foram mais eficientes em aumentar o teor de fósforo nas raízes. Oliveira et al. (2023) explicam esse fenômeno pela capacidade dessas bactérias em secretar ácidos orgânicos e fosfatases, que promovem a solubilização do fósforo imobilizado no solo, aumentando sua disponibilidade.

Esse efeito positivo sobre a solubilização e absorção de fósforo é amplamente relatado na literatura recente, destacando sua importância para a agricultura sustentável (Ferreira et al., 2024; Santos et al., 2024). A análise dos resultados do experimento em campo revela que a inoculação com *Bacillus subtilis* associada a doses reduzidas de fertilizantes minerais constitui uma estratégia eficaz para incrementar parâmetros como massa seca aérea e produtividade. Destaca-se o tratamento com 25% da dose recomendada de fertilizante mineral combinado à alta concentração do inoculante bacteriano (10^9 UFC mL⁻¹), que superou inclusive a fertilização completa sem inoculação quanto à biomassa aérea. Isso está alinhado aos achados recentes de Deng et al., (2025), que também observaram melhor desempenho agrônomo do milho sob inoculação bacteriana combinada a baixas doses de fertilizantes, atribuindo os ganhos observados à promoção do crescimento radicular e ao aumento na eficiência nutricional das plantas.

Contudo, observou-se um efeito contrastante no teor de nitrogênio na biomassa aérea sob condições de campo, onde tratamentos inoculados não superaram os tratamentos exclusivamente fertilizados. Silva et al. (2024) relatam que a eficácia de *Bacillus subtilis* em condições de campo pode ser limitada por fatores ambientais, como temperatura, umidade e interações com a microbiota nativa do solo, resultando em menor persistência e eficácia desses inoculantes comparativamente aos ambientes controlados. Portanto, ajustes nos métodos de aplicação e na concentração dos inoculantes são necessários para maximizar seu potencial agrônomo em campo.

Em relação ao acúmulo de nitrogênio nos grãos, o tratamento com fertilização reduzida e inoculação bacteriana resultou em alta eficiência, ressaltando a capacidade dos inoculantes em melhorar a translocação e assimilação desse nutriente para os

órgãos reprodutivos. Song et al. (2023) destacam que a inoculação com *Bacillus* spp. pode aumentar a assimilação de nitrogênio em grãos de milho mesmo sob doses reduzidas de fertilizantes minerais, devido à otimização do metabolismo vegetal proporcionada pelas interações planta-bactéria.

Por fim, os resultados sobre produtividade total reforçam a viabilidade agrônômica e econômica do uso de *Bacillus subtilis* em sistemas agrícolas sustentáveis. Os ganhos produtivos observados em tratamentos com inoculação combinada à redução da fertilização mineral sustentam a importância dessa abordagem como uma alternativa viável para mitigar impactos ambientais associados ao uso excessivo de fertilizantes minerais, alinhando-se aos princípios de manejo regenerativo do solo (Rahman et al., 2023).

Esses achados evidenciam que o uso integrado de inoculantes microbianos e fertilizantes minerais reduzidos não apenas maximiza o desempenho agrônômico do milho, mas também contribui positivamente para a sustentabilidade agrícola. Recomenda-se que estudos futuros continuem explorando essas interações em diferentes condições edafoclimáticas para validar a eficácia dessa estratégia em larga escala.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a inoculação com *Bacillus subtilis*, especialmente na concentração de 10^9 UFC mL⁻¹, exerce efeitos positivos no crescimento e nutrição do milho, sendo capaz de compensar, parcial ou totalmente, a redução na dose de fertilizante mineral. Em casa de vegetação, observou-se incremento significativo nos teores de nitrogênio e fósforo, bem como na biomassa aérea e radicular, principalmente quando a inoculação foi associada a 25% ou mais da dose de adubação.

No experimento de campo, a associação entre doses reduzidas de fertilizante (25%) e a inoculação com *B. subtilis* também promoveu ganhos significativos na massa seca da parte aérea, no teor de nutrientes nos grãos e na produtividade, igualando ou superando os valores obtidos com a adubação mineral total. Esses

resultados indicam um efeito sinérgico entre o uso racional de fertilizantes e a aplicação de microrganismos promotores de crescimento, contribuindo tanto para o desempenho agrônomo quanto para a sustentabilidade do sistema de produção.

5. Referências

- ADELEKE, B. S.; BABALOLA, O. O.; GLICK, B. R. Plant growth-promoting root-colonizing bacterial endophytes. *Rhizosphere*, v. 20, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100442>.
- Agronomy*, v. 13, n. 4, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy13040855>. Acesso em: 30 abr. 2025.
- Agronomy*, v. 13, n. 7, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy13071874>. Acesso em: 30 abr. 2025.
- ANJUM, R. et al. Endophytes: As potential biocontrol agent—review and future prospects. *Journal of Agricultural Science*, v. 11, n. 4, p. 113, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v11n4p113>.
- BARBOSA, J. C.; MALDONADO, W. J. *AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos*. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2015. 396 p.
- DA SILVA, F. C. et al. *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: A review. *Journal of Applied Microbiology*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.15480>. Acesso em: 30 abr. 2025.
- DE LIMA, B. C. et al. *Bacillus subtilis* rhizobacteria ameliorate heat stress in the common bean. *Rhizosphere*, v. 21, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100472>.
- DE ROSSI, R. L. et al. Crop damage, economic losses, and the economic damage threshold for northern corn leaf blight. *Crop Protection*, v. 154, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105901>.
- DENG, L. et al. Study of the mechanism by which *Bacillus subtilis* improves the soil–plant–microbial system. *Science of The Total Environment*, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170923>. Acesso em: 30 abr. 2025.
- em: 30 abr. 2025.
- em: 30 abr. 2025.
- [-e-seus-efeitos-sobre-as-plantas.pdf](#). Acesso em: 30 abr. 2025.
- FERREIRA, L. M. et al. Eficiência de *Bacillus subtilis* selecionados para culturas no Tocantins 2024. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/380054687_EF

[ICIENCIA DE *Bacillus subtilis* SELECIONADOS PARA CULTURAS NO TOCAN TINS Milho](#). Acesso em: 30 abr. 2025.

FERREIRA, R. P. et al. Inoculation with *Bacillus megaterium* and *Bacillus subtilis* improves phosphorus acquisition and maize yield. *Applied Soil Ecology*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.105330>. Acesso em: 30 abr. 2025.

GUO, J. et al. *Bacillus subtilis* promotes phosphorus uptake in maize via root hair proliferation. *Physiologia Plantarum*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.14338>. Acesso em: 30 abr. 2025.

GUPTA, S.; SAXENA, S. Endophytes: Saviour of apples from post-harvest fungal pathogens. *Biological Control*, v. 182, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105310>.

HERENCIA, J. F. et al. Comparison between organic and mineral fertilization for soil fertility levels, crop macronutrient concentrations, and yield. *Agronomy Journal*, Madison, v. 99, p. 973–983, 2007. DOI: <https://doi.org/10.2134/agronj2006.0167>.

SONG, P.; ZHAO, B.; SUN, X.; LI, L.; WANG, Z.; MA, C.; ZHANG, J. Effects of *Bacillus subtilis* HS5B5 on maize seed germination and seedling growth under NaCl stress conditions. *Agronomy*, v. 13, n. 7, p. 1874, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy13071874>

MILANI, R. et al. *Bacillus subtilis* isolates with different abilities to promote plant growth in maize, cotton and soybean crops: Isolation and characterization of bacterial strains. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 21, 2019.

MORAES, J. R. E. et al. Inoculação com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho: efeito sobre o crescimento e nutrição. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 20, n. 2, p. 237–248, 2021. DOI: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v20n2p237-248>.

MORAES, J. R. E. et al. Inoculação com *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense* na cultura do milho: efeito sobre o crescimento e nutrição. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 20, n. 2, 2021.

NOTUNUNU, I. et al. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the molecular responses of maize under drought and heat stresses: A review. *Pedosphere*, v. 32, p. 90–106, 2022. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(21\)60159-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60159-3).

OLIVEIRA, A. L. M. et al. Eficiência agronômica de inoculantes à base de *Bacillus* em milho sob diferentes condições edafoclimáticas. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 45,

OLIVEIRA, A. L. M. et al. Microrganismos promotores do crescimento de plantas: importância, mecanismos e aplicações. *Embrapa Agrobiologia – Documentos*, n. 140, Seropédica, RJ: Embrapa, 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1149358/1/27397.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2025.

OLIVEIRA-PAIVA, C. A. et al. Inoculantes e seus efeitos sobre as plantas. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020. Disponível em:

OMARA, P. et al. World cereal nitrogen use efficiency trends: Review and current knowledge. *Agrosystems, Geosciences and Environment*, v. 2, p. 1–8, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/agg2.20087>.

PONS, W. A.; GUTHRIE, J. D. Determination of inorganic phosphorus in plant materials. *Southern Regional Research Laboratory*, New Orleans, v. 1, p. 1–9, 1946.

RAHMAN, M. M. et al. Biological strategies to minimize fertilizer use in maize.

RAWAL, N. et al. Nutrient use efficiency (NUE) of wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by NPK fertilization. *PLOS ONE*, v. 17, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262771>.

RAYA-HERNÁNDEZ, A. I. et al. Field evidence for maize-mycorrhiza interactions in agroecosystems with low and high P soils under mineral and organic fertilization. *Applied Soil Ecology*, v. 149, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103511>.

SALIM, N.; RAZA, A. Nutrient use efficiency (NUE) for sustainable wheat production: A review. *Journal of Plant Nutrition*, v. 43, p. 297–315, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1675538>.

SANTOS, E. F. dos et al. Multifunctionality of plant growth-promoting *Bacillus* species: from rhizosphere competence to biocontrol. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 52, p. 1211–1220, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00549-9>.

TAHIR, H. A. S. et al. Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00171>.

ZHANG, H. et al. *Bacillus subtilis* enhances growth and nutrient uptake in maize under low nitrogen conditions. *Industrial Crops and Products*, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.117159>. Acesso em: 30 abr. 2025.

ZHAO, F. et al. Biological N fixation but not mineral N fertilization enhances the accumulation of N in peanut soil in maize/peanut intercropping system. *Journal of Agriculture and Food Research*, v. 10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100365>.

ZUFFO, A. M. et al. Synergistic effect of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus subtilis* on nitrogen metabolism and maize yield under reduced nitrogen fertilization. *Scientific Reports*, v. 11, p. 1–14, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86908-5>.

CAPITULO - 4 Aplicação de *Bacillus subtilis* na cultura da soja: avaliação em casa de vegetação e campo

RESUMO: A elevada dependência de fertilizantes minerais na cultura da soja (*Glycine max*) tem despertado preocupações quanto à sustentabilidade ambiental e econômica dos sistemas produtivos. Este estudo avaliou o potencial de *Bacillus subtilis*, como microrganismo promotor de crescimento vegetal (MPCV), para reduzir a necessidade de fertilização química sem comprometer o desempenho agrônomo da soja. Foram conduzidos experimentos em casa de vegetação e em campo, testando cinco doses de fertilizante mineral (0, 25, 50, 75 e 100%) e três níveis de inóculo de *B. subtilis* (ausente, 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹), em delineamento fatorial. Os resultados demonstraram que a inoculação com *B. subtilis*, especialmente na concentração de 10^9 UFC mL⁻¹, promoveu incrementos significativos na massa seca da parte aérea e radicular, além de aumentar os teores de nitrogênio e fósforo, mesmo em condições de adubação reduzida. No campo, o tratamento com 25% da dose de fertilizante associado à bactéria na maior concentração superou a adubação plena isolada em diversos parâmetros, incluindo produtividade. Esses achados indicam que a inoculação com *B. subtilis* pode ser uma alternativa viável para reduzir o uso de insumos químicos na cultura da soja, contribuindo para sistemas agrícolas mais eficientes e sustentáveis.

Palavras-chave: fertilização mineral reduzida; bioinoculante; produtividade; sustentabilidade agrícola; nutrição de plantas.

1. INTRODUÇÃO

A agricultura brasileira ocupa posição de destaque no cenário mundial, com a cultura da soja (*Glycine max*) como uma de suas principais culturas. O Brasil é o maior exportador global do complexo soja grãos, farelo e óleo e o segundo maior produtor mundial (Souza; Bittencourt, 2020). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, as exportações brasileiras de soja totalizaram 96,8 milhões de toneladas, mantendo o país como principal fornecedor global, mesmo diante de oscilações sazonais (Conab, 2024),.

Apesar da expressiva produtividade, a sustentabilidade do sistema produtivo tem sido questionada devido ao uso intensivo de fertilizantes minerais e defensivos químicos, os quais têm contribuído para a degradação ambiental e riscos à saúde humana (Adelek et al., 2021; Wang et al., 2023). Os impactos incluem contaminação do solo e da água, desenvolvimento de resistência em patógenos, toxicidade residual e efeitos adversos sobre organismos não-alvo (Meena et al., 2020).

Nesse cenário, práticas agrícolas sustentáveis, como a utilização de Bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCPs), têm ganhado destaque por oferecerem soluções ecologicamente seguras e economicamente viáveis (Dhayalan et al., 2021). Dentre as BPCPs, espécies do gênero *Bacillus* se destacam, especialmente *Bacillus subtilis*, amplamente estudado por sua atuação como biofertilizante e agente de biocontrole (Ramírez-Pool et al., 2024).

Bacillus subtilis atua por múltiplos mecanismos, como solubilização de nutrientes, produção de fitormônios, antagonismo a fitopatógenos, indução de resistência sistêmica e modulação do microbioma rizosférico. Esses atributos têm sido associados ao aumento da eficiência de uso de nitrogênio, prevenção de doenças e incremento do crescimento vegetal em diferentes culturas (Blake et al., 2022; Wang et al., 2023).

Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar, em condições de casa de vegetação e de campo, a eficácia da inoculação com *Bacillus subtilis* na promoção do

crescimento da soja, verificando sua capacidade de reduzir a dose de fertilizante mineral sem prejuízo à produtividade.

2 METODOLOGIA

2.1. Local de condução do experimento

O experimento foi inicialmente conduzido em casa de vegetação na Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de Jaboticabal, localizada na região Noroeste do Estado de São Paulo (21° 15' 22" S, 48° 18' 58" W, altitude de 605 m). O clima da região é do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen-Geiger, caracterizado por verões quentes e úmidos e invernos secos. A casa de vegetação foi mantida sob condições controladas, com temperatura média de 24 ± 2 °C, umidade relativa de $50 \pm 2\%$ e fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Utilizou-se Latossolo Vermelho eutroférico de textura argilosa. A cultivar utilizada foi ADV 4317 IPRO soja, desenvolvido pela empresa Advanta Seeds..

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 5×3 , totalizando 15 tratamentos. O fator A correspondeu a cinco doses de fertilizante mineral (0, 25, 50, 75 e 100%), e o fator B a três níveis de inóculo de *Bacillus subtilis* (sem inoculação, 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹), com quatro repetições. O experimento teve duração de 60 dias, com colheita das plantas no estágio vegetativo V6.

Para validação em condições de campo, foram selecionados os tratamentos com melhor desempenho em acúmulo de biomassa seca. O ensaio foi instalado na Fazenda de Ensino e Pesquisa da FCAV/UNESP, também em Jaboticabal (20°10'46,81" S, 48°17'07,85" W, altitude de 550 m). A cultivar utilizada foi ADV 4317 IPRO soja, desenvolvido pela empresa Advanta Seeds com as práticas agrícolas recomendadas para a cultura da soja. A condução no campo teve duração de 130 dias, do plantio até a fase reprodutiva.

2.2 Preparo dos vasos casa de vegetação

Foram utilizados vasos com capacidade de 5 dm³ (20 cm de altura × 22 cm de

diâmetro), preenchidos com solo coletado na área experimental da própria instituição. O solo, previamente seco ao ar e peneirado (malha de 5 mm), apresentava as seguintes características químicas: pH 6,5; matéria orgânica de 11 g dm⁻³; P disponível de 20 mg dm⁻³; K de 0,7 mmolc dm⁻³; e Mg de 5,0 mmolc dm⁻³.

A adubação foi realizada com base na análise química do solo, conforme recomendações para cultivo em vasos (HERENCIA et al., 2007), sendo aplicados: 80 mg dm⁻³ de nitrogênio (ureia), 200 mg dm⁻³ de fósforo (superfosfato simples), 180 mg dm⁻³ de potássio (cloreto de potássio). Além dos macronutrientes, os seguintes micronutrientes foram adicionados: 0,5 mg dm⁻³ de boro (ácido bórico), 1,5 mg dm⁻³ de cobre (sulfato de cobre), 3,0 mg dm⁻³ de manganês (sulfato de manganês), 3,0 mg dm⁻³ de ferro (sulfato de ferro). Os tratamentos de fertilização foram realizados com base em 100% da adubação de referência, sendo ajustados para 0, 25, 50, 75 e 100% nas diferentes combinações experimentais.

2.3 Montagem do experimento em campo

Foram determinadas vinte oito parcelas de 30m² (6m x 5m), correspondentes a sete tratamentos que foram selecionados com quatro repetições cada tratamento, o espaçamento entre as plantas foi de 0,5m x 0,1m. a profundidade de semeadura do milho foi a mesma do experimento em vasos (5cm). Foram aplicados os mesmo nutrientes utilizados para casa de vegetação nas mesmas proporções, assim como os macronutrientes primários (N, P e K), fornecidos por adubação mineral de acordo com a análise química do solo, com redução de 75%, 50%, 25% e 0%.

2.4 Microrganismo e preparo do inóculo

O microrganismo utilizado foi uma cepa de *Bacillus subtilis*, isolada de plantas de milho, pertencente à coleção do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Produção Vegetal da UNESP - FCAV, Jaboticabal. A cepa foi previamente caracterizada e teve sua sequência depositada no GenBank sob o número MZ133755. Para o preparo do inóculo, a cepa foi cultivada em caldo nutriente (60 mL por frasco Erlenmeyer de 125 mL) e incubada a 30 °C por 24 horas em cultura estática. Após esse período, a densidade celular foi padronizada por leitura

espectrofotométrica a 630 nm. A contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) foi realizada por plaqueamento em meio sólido, permitindo ajustar a concentração para 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹.

2.5 Plantio e inoculações, casa de vegetação

As sementes utilizadas foram da cultivar utilizada a variedade AG8701 PRO 4 desenvolvida pela Agrocere e Bayer. Três sementes foram semeadas por vaso contendo o solo previamente adubado. Após a emergência, realizou-se o desbaste, mantendo duas plantas por vaso. A inoculação com *B. subtilis* foi realizada em quatro aplicações consecutivas, com intervalo de sete dias, totalizando 10 mL por aplicação. Os tratamentos com inoculação receberam as concentrações de 10^4 ou 10^9 UFC mL⁻¹, enquanto o grupo controle não recebeu inóculo bacteriano. em campo foram 4 aplicações realizadas uma na emergência da planta e as outras a cada 10 dias.

2.6 Delineamento experimental

Em casa de vegetação, os vasos foram dispostos em blocos casualizados, com quinze tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos resultaram da combinação de cinco doses de fertilizante mineral (0, 25, 50, 75 e 100%) e três condições de inoculação bacteriana (sem inoculação, 10^4 UFC mL⁻¹ e 10^9 UFC mL⁻¹), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento conduzido em casa de vegetação.

Tratamento	Dose de fertilizante mineral (%)	Inoculação com <i>Bacillus subtilis</i> (UFC mL ⁻¹)
F0B0	0	0
F0B4	0	10^4
F0B9	0	10^9
F25B0	25	0
F25B4	25	10^4
F25B9	25	10^9
F50B0	50	0
F50B4	50	10^4
F50B9	50	10^9
F75B0	75	0

F75B4	75	10 ⁴
F75B9	75	10 ⁹
F100B0	100	0
F100B4	100	10 ⁴
F100B9	100	10 ⁹

Ao todo quinze tratamentos, com 4 repetições cada. O experimento em casa de vegetação foi concluído e o grupo controle e outros 5 tratamentos avaliados foram selecionados para serem testados em campo. Os resultados considerados para o processo de seleção foi a matéria seca encontrados em parte aérea e raízes das plantas. As parcelas foram divididas em blocos casualizados, com 4 repetições. A lista de tratamentos selecionados pode ser observada na tabela 2.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos utilizados no experimento conduzido em campo.

Tratamento	Dose de fertilizante mineral (%)	Inoculação com <i>Bacillus subtilis</i> (UFC mL⁻¹)
1	0	0
2	100	0
3	50	10 ⁴
4	75	0
5	75	10 ⁴
6	100	10 ⁴
7	25	10 ⁹

Ao todo sete tratamentos, com quatro repetições cada, totalizando 28 parcelas.

2.7 Variáveis avaliadas

2.7.1 Massa seca da parte aérea e das raízes

Parte aérea e raízes foram coletadas ao final dos experimentos conduzidos em casa de vegetação e em campo, utilizando-se três plantas por parcela, selecionadas aleatoriamente. As amostras foram lavadas em água corrente, secas com papel toalha, acondicionadas em sacos de papel e transferidas para estufa com circulação forçada de ar, mantida a 65 °C por 72 horas. Após a secagem, o material foi pesado em balança semianalítica para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA) e da massa seca das raízes (MSR).

2.7.2 Teores de nitrogênio e fósforo

Após a secagem, as amostras de parte aérea e raízes provenientes dos experimentos conduzidos em casa de vegetação e em campo foram moídas em moinho tipo Wiley. A quantificação do nitrogênio total foi realizada por digestão sulfúrica, seguida de titulação. Para o fósforo, utilizou-se digestão nítrico-perclórica, com leitura em espectrofotômetro. As análises seguiram os procedimentos descritos no Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes (Pons; Guthrie, 1946).

2.7.3 Teores de clorofilas e carotenoides

A quantificação dos pigmentos foi realizada com 0,025 g de massa fresca de folhas, coletadas a partir do penúltimo trifólio. As amostras foram transferidas para tubos contendo acetona a 80%, protegidos da luz com papel alumínio e mantidos em câmara fria (8 °C) até completa descoloração. As extrações foram conduzidas em triplicata. As leituras espectrofotométricas foram realizadas nos comprimentos de onda de 663 nm (clorofila a), 647 nm (clorofila b) e 470 nm (carotenoides). As concentrações foram calculadas conforme as equações descritas por Lichtenthaler (1987), sendo os resultados expressos em microgramas de pigmento por grama de massa fresca ($\mu\text{g/g}$).

2.7.4 Reisolamento dos isolados transformados

O reisolamento dos isolados de *Bacillus subtilis* foi realizado 60 dias após a semeadura, com o objetivo de verificar a colonização endofítica. Foram amostrados raízes, caules e folhas, que foram separados e lavados em água corrente para remoção de solo aderido e impurezas superficiais. A desinfecção dos tecidos seguiu o protocolo descrito por Araújo et al. (2002b). Em condições assépticas, 0,5 g de tecido de cada órgão foram seccionados e macerados em 4,5 mL de solução salina estéril (NaCl a 0,1%).

As amostras foram submetidas a diluições seriadas, transferindo-se 1 mL da suspensão inicial para tubos contendo 9 mL de solução salina, totalizando 10^{-1} a 10^{-6} . Em seguida, os tubos foram submetidos a choque térmico em banho-maria a 80 °C

por 10 minutos, seguido de resfriamento imediato em banho de gelo por 5 minutos, conforme metodologia proposta por Rothfuss, Bender e Conrad (1997), visando a seleção de esporos termorresistentes característicos do gênero *Bacillus*.

Posteriormente, 100 µL de cada diluição foram plaqueados em meio BHI suplementado com ampicilina (100 µg/mL). As placas foram incubadas a 28 °C, e a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) foi realizada após 24 e 48 horas.

2.7.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F, utilizando o software AgroEstat (Barbosa; Maldonado, 2015). Quando observada significância estatística ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Scott–Knott a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS

3.1 Resultado casa de vegetação

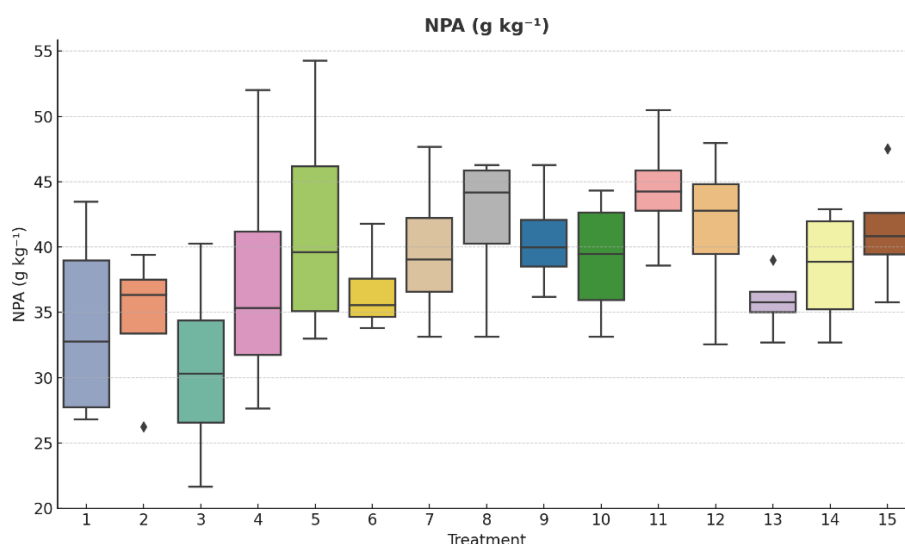
3.1.1 Nitrogênio parte aérea

O teor de nitrogênio na parte aérea (NPA) das plantas de soja variou significativamente entre os tratamentos, conforme apresentado na Figura 13. O tratamento F0B0 (sem adubação e sem inoculação) apresentou os menores valores, evidenciando a limitação nutricional decorrente da ausência do fertilizante. A inoculação com *Bacillus subtilis* a 10^4 UFC mL⁻¹ (F0B4) promoveu aumento discreto no NPA, enquanto F0B9 (com 10^9 UFC mL⁻¹) apresentou incremento expressivo, mesmo na ausência de fertilizante, sugerindo atuação do microrganismo como promotor de crescimento, possivelmente via produção de fitohormônios.

A aplicação de 25% da dose de fertilizante (F25B0) elevou o NPA em relação aos tratamentos sem adubação, e a combinação com inoculação (F25B4 e F25B9)

resultou em incrementos graduais, sendo F25B9 significativamente superior aos demais desse grupo. Isso evidencia a sinergia entre inoculação e fertilização parcial, favorecendo a absorção de nitrogênio.

Com 50% de adubação (F50B0), observou-se novo aumento no NPA, o qual foi ampliado pela inoculação com *B. subtilis* (F50B4 e F50B9), com destaque para F50B9, que se igualou aos níveis dos tratamentos com 100% de fertilizante. Entre os tratamentos com 75% de adubação, a resposta foi semelhante: F75B9 apresentou teores de nitrogênio comparáveis ao tratamento F100B9, reforçando a eficácia do inoculante em condições de fertilização intermediária.



Nos tratamentos com 100% de adubação mineral, F100B9 se destacou como o de maior eficiência nutricional de todo o experimento, superando inclusive o F100B0 (adubação plena sem inoculação). Esses resultados demonstram que a inoculação com *B. subtilis*, especialmente na concentração de 10^9 UFC mL⁻¹, potencializa a assimilação de nitrogênio na parte aérea da soja, sendo capaz de compensar, parcial ou totalmente, a redução nas doses de fertilizante mineral. GRÁFICO 1. Teor de Nitrogênio na Parte Aérea de Plantas de Soja sob Diferentes Doses de Fertilizante e Inoculação com *Bacillus subtilis*. Figura 1. Teor médio de nitrogênio na parte aérea de plantas de soja cultivadas em casa de vegetação, submetidas a diferentes doses de fertilizante mineral (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) e à inoculação com *Bacillus subtilis* nas concentrações de 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Scott- Knott a 5% de probabilidade (p

< 0,05)

3.2 Nitrogênio raiz

O teor de nitrogênio nas raízes (NR) das plantas de soja apresentou um padrão distinto daquele observado na parte aérea, conforme demonstrado na Figura 14. O tratamento F0B0 (sem adubação e sem inoculação) exibiu os menores valores de NR, refletindo severa limitação na absorção de nitrogênio radicular. A inoculação com *Bacillus subtilis* nas concentrações de 10^4 UFC mL⁻¹ (F0B4) e 10^9 UFC mL⁻¹ (F0B9) resultou em incrementos modesto e expressivo, respectivamente, indicando que o microrganismo também influencia positivamente a nutrição radicular, embora com menor intensidade em comparação à parte aérea.

Nos tratamentos com 25% de fertilizante (F25B0, F25B4 e F25B9), verificou-se aumento progressivo no NR com o uso do inoculante, sendo F25B9 significativamente superior aos demais, o que evidencia o efeito benéfico da alta concentração bacteriana sobre a eficiência da absorção radicular de nitrogênio. Esse padrão foi mantido nas doses de 50% e 75%, com destaque para F50B9 e F75B9, que superaram seus pares não inoculados, reforçando o efeito sinérgico entre a inoculação microbiana e a fertilização mineral.

O tratamento F100B0 (fertilizante pleno sem inoculante) apresentou os maiores valores absolutos de NR, sugerindo que a elevada disponibilidade de nitrogênio no solo favorece seu acúmulo radicular, possivelmente por limitação na translocação para a parte aérea. No entanto, nos tratamentos F100B4 e F100B9, observou-se leve redução no teor de NR, o que pode indicar uma redistribuição mais eficiente do nitrogênio absorvido, promovida pela atividade bacteriana que estimula mecanismos fisiológicos relacionados ao transporte e assimilação interna do nutriente.

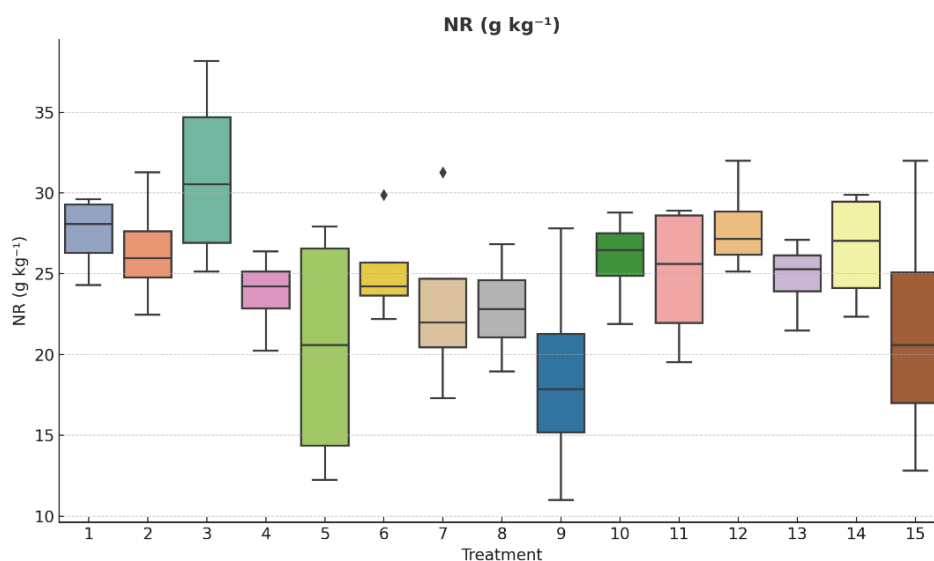


GRÁFICO 2. Teor de Nitrogênio nas Raízes de Plantas de Soja sob Diferentes Tratamentos com Fertilizante e Bactéria. Letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

3.2. Fosforo raiz

O teor de fósforo nas raízes (PR) variou significativamente entre os tratamentos, conforme ilustrado na Figura 15, evidenciando a influência direta da adubação mineral e da inoculação com *Bacillus subtilis* na absorção deste nutriente. O tratamento F0B0 (sem adubação e sem inoculante) apresentou os menores valores de PR, refletindo carência nutricional acentuada e limitada capacidade da planta em mobilizar fósforo do solo sem intervenção externa. A inoculação com *B. subtilis* nas concentrações de 10^4 (F0B4) e 10^9 UFC mL⁻¹ (F0B9) promoveu incrementos graduais no PR, com maior efeito observado em F0B9, sugerindo a atuação do microrganismo na solubilização de fósforo.

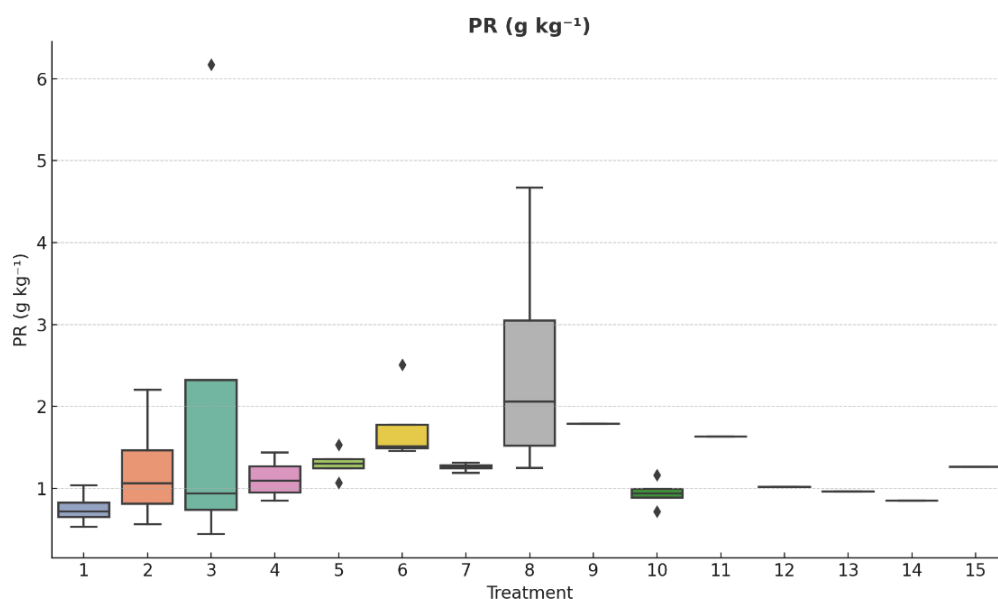


GRÁFICO 3. Teor de Fósforo nas Raízes de Soja Tratadas com Diferentes Níveis de Fertilizante e Inoculação Microbiana. Teor médio de fósforo nas raízes de plantas de soja cultivadas em casa de vegetação, em função das doses de fertilizante e da inoculação com *Bacillus subtilis* em diferentes concentrações. Letras distintas indicam diferenças significativas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Nos tratamentos com 25% de fertilizante (F25B0, F25B4 e F25B9), verificou-se aumento progressivo nos teores de PR conforme se elevou a concentração do inoculante, sendo F25B9 o mais eficiente desse grupo. Este tratamento superou inclusive alguns com maior dose de adubação, indicando que a inoculação em alta densidade pode compensar parcialmente a limitação de fósforo mineral. Padrão semelhante foi identificado nos grupos com 50% e 75% de fertilizante, em que os tratamentos F50B9 e F75B9 destacaram-se em relação às versões não inoculadas.

3.3. Fósforo parte aérea

O teor de fósforo na parte aérea (PPA) variou significativamente entre os tratamentos, refletindo a influência da adubação mineral e da inoculação com *Bacillus subtilis*, como apresentado na (Figura 16). O tratamento F0B0 (sem fertilizante e sem inoculante) apresentou os menores valores, demonstrando que a ausência de fertilizantes compromete a absorção, do fósforo para a planta.

A inoculação com *B. subtilis* nas concentrações de 10^4 (F0B4) e 10^9 UFC mL⁻¹ (F0B9) promoveu incrementos no PPA, com destaque para F0B9, o que sugere que o microrganismo favorece a mobilização e o transporte do fósforo absorvido pelas plantas apresentando maior atividade metabólica.

Nos tratamentos com 25% da dose de fertilizante (F25B0, F25B4 e F25B9), observou-se que a presença da bactéria elevou os teores de PPA, especialmente em F25B9, que superou significativamente o tratamento sem inoculação, indicando melhor aproveitamento do nutriente sob baixa adubação. Esse padrão se manteve nas doses de 50% e 75%, com destaque para os tratamentos F50B9 e F75B9, que apresentaram elevados teores de fósforo na parte aérea, superiores aos respectivos controles não inoculados.

Na fertilização total, o tratamento F100B0 atingiu altos níveis de PPA, como esperado. No entanto, o F100B9 que combinou 100% de fertilizante com 10^9 de *B. subtilis* apresentou os maiores valores entre todos os tratamentos, evidenciando uma interação sinérgica entre adubação mineral e inoculação. Essa resposta pode estar relacionada à ação microbiana na estimulação do crescimento radicular, na produção de compostos solubilizadores e na ativação de enzimas envolvidas na absorção de fósforo, além da possível indução no desenvolvimento da planta.

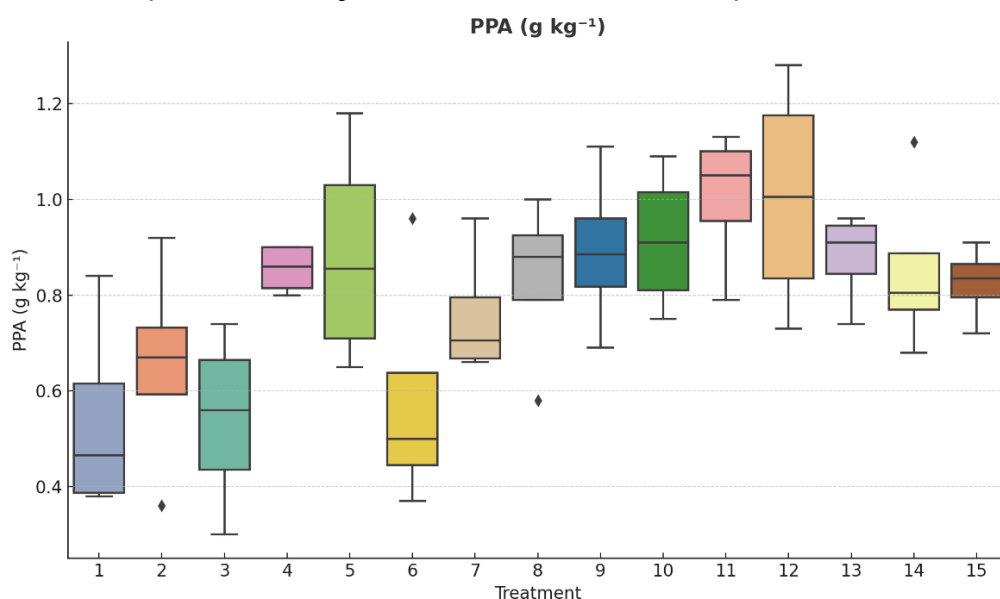


GRÁFICO 4. Teor de Fósforo na Parte Aérea de Soja sob Fertilização Gradual e Inoculação com *Bacillus subtilis*. Teor médio de fósforo na parte aérea de plantas de

soja cultivadas em casa de vegetação, submetidas a diferentes níveis de adubação mineral e à presença de *Bacillus subtilis*. As letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de Scott-Knott a 5% ($p < 0,05$).

3.4. Massa seca da parte aérea

A massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas de soja apresentou respostas bastante sensíveis aos diferentes níveis de adubação e inoculação com *Bacillus subtilis*. O tratamento F0B0, sem fertilizante e sem bactéria, exibiu os menores valores de MSPA, refletindo a severa limitação de nutrientes e a consequente redução do crescimento vegetativo. A inoculação com a bactéria em baixa concentração (F0B4) resultou em leve incremento, enquanto a alta concentração (F0B9) proporcionou ganho mais expressivo, ainda que insuficiente para alcançar níveis observados em tratamentos com fertilizante. Isso evidencia que a bactéria, por si só, pode promover crescimento vegetal, mas sua eficiência é potencializada quando combinada com fertilizantes minerais.

A adubação a 25% da dose recomendada, sem inoculação (F25B0), resultou em valores moderados de MSPA, indicando um avanço no desenvolvimento das plantas em relação ao controle, mas ainda aquém do ideal. A associação com *Bacillus subtilis* em F25B4 e, principalmente, F25B9, levou a aumentos progressivos na massa seca, com F25B9 se aproximando de valores de tratamentos com maiores doses de fertilizante. Isso demonstra que a bactéria melhora a eficiência de uso dos nutrientes aplicados, permitindo um melhor desenvolvimento mesmo sob adubação limitada.

Com 50% e 75% de fertilizante (F50 e F75), o padrão se manteve: a inoculação bacteriana contribuiu para ganhos significativos de biomassa aérea, sendo os tratamentos F50B9 e F75B9 os mais expressivos dentro de seus respectivos grupos. Esses resultados confirmam que a aplicação conjunta de fertilizante e bactéria cria um ambiente favorável para o crescimento da planta, ampliando a capacidade de absorção de nutrientes e promovendo o acúmulo de massa vegetal.

Nos tratamentos com 100% de fertilizante (F100B0, F100B4 e F100B9), observou-se uma saturação nos valores de MSPA, com pequenas variações entre si.

Embora todos tenham apresentado alta massa seca, F100B9 ainda se destacou levemente, sugerindo que mesmo em condições de adubação plena, a presença de *Bacillus subtilis* pode exercer efeitos positivos adicionais, provavelmente relacionados à regulação hormonal e ao estímulo do metabolismo vegetal.

Portanto, os dados do gráfico de MSPA demonstram que a inoculação com *Bacillus subtilis* é uma estratégia promissora para aumentar a produtividade da soja, especialmente quando combinada com doses intermediárias de fertilizante. Essa prática pode reduzir a necessidade de insumos químicos, contribuir para a sustentabilidade do sistema produtivo e manter elevados níveis de biomassa aérea, essenciais para o rendimento final da cultura.

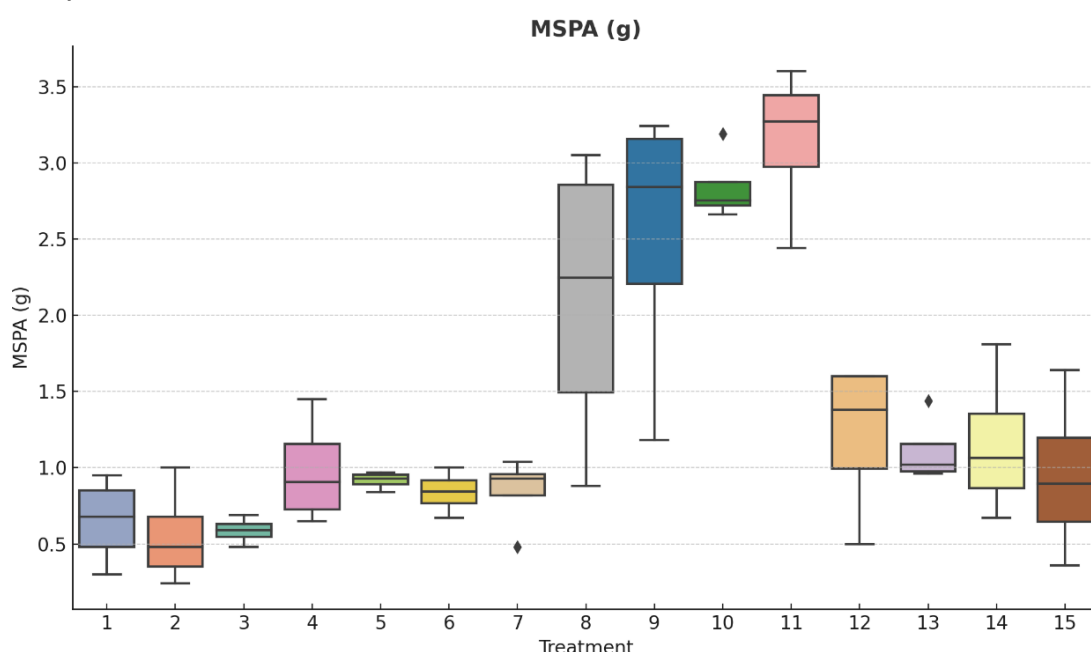


GRÁFICO 5. Massa Seca da Parte Aérea de Plantas de Soja em Resposta à Fertilização e Inoculação com *Bacillus subtilis*. Massa seca da parte aérea de plantas de soja sob diferentes doses de fertilizante e com ou sem inoculação de *Bacillus subtilis* (10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹), em casa de vegetação. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

3.5. Massa seca raiz

A massa seca das raízes (MSR) das plantas de soja apresentou variações significativas de acordo com os tratamentos aplicados, refletindo a influência tanto da

disponibilidade de nutrientes quanto da ação de *Bacillus subtilis* no desenvolvimento radicular. O tratamento F0B0, sem adubação e sem inoculação, resultou nos menores valores de MSR, indicando que a ausência completa de insumos limita severamente o crescimento do sistema radicular. A inoculação com a bactéria, especialmente em alta concentração (F0B9), promoveu aumento notável na massa radicular mesmo sem adubo, sugerindo um efeito direto da bactéria na indução do crescimento de raízes, possivelmente por meio da produção de auxinas ou da melhoria da estrutura do solo ao redor da rizosfera.

Nos tratamentos com 25% de fertilizante, observou-se incremento progressivo na MSR com a adição da bactéria, sendo o tratamento F25B9 o mais destacado. Isso reforça que a bactéria atua de forma sinérgica com a adubação, estimulando o crescimento radicular mesmo com menor aporte nutricional. O mesmo padrão se manteve para os níveis de 50% e 75% de adubação, com os tratamentos F50B9 e F75B9 apresentando massas secas radiculares superiores aos respectivos controles sem inoculação. Essa maior massa radicular está diretamente associada à maior capacidade de exploração do solo, o que pode contribuir para maior eficiência de absorção de água e nutrientes.

No tratamento com fertilização plena (F100B0), os valores de MSR foram elevados, como esperado, mas novamente superados pelo tratamento F100B9. Isso evidencia que a presença de *Bacillus subtilis*, mesmo em condições nutricionais ótimas, potencializa o desenvolvimento radicular. Tal efeito pode estar relacionado à indução de respostas fisiológicas e bioquímicas nas raízes, como o aumento da ramificação e da densidade de pelos radiculares, além da modulação de genes envolvidos no crescimento e na resistência a estresses abióticos.

De maneira geral, o gráfico de MSR confirma que *Bacillus subtilis* exerce papel fundamental no desenvolvimento do sistema radicular da soja, com efeitos significativos tanto em condições de restrição quanto de abundância nutricional. A utilização conjunta de fertilizante e bactéria resulta em um sistema radicular mais robusto e eficiente, capaz de sustentar maior desenvolvimento da parte aérea e, potencialmente, maior produtividade. Essa resposta é particularmente importante em solos tropicais com baixa fertilidade natural, reforçando o papel dos bioinsumos como

aliados na construção de sistemas agrícolas mais resilientes e produtivos.

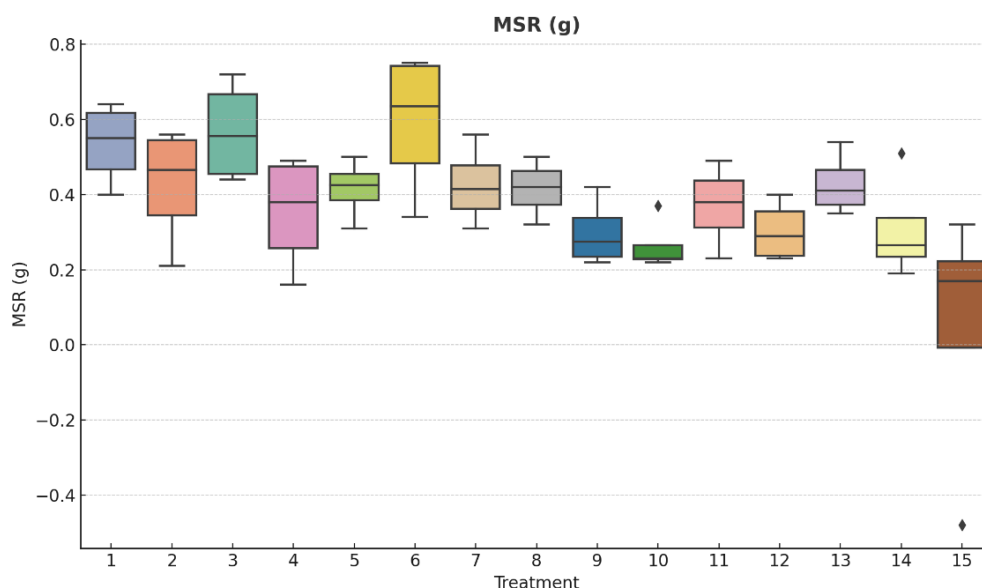


GRÁFICO 6. Massa Seca das Raízes de Plantas de Soja sob Diferentes Tratamentos Nutricionais e Biológicos. Massa seca radicular de plantas de soja cultivadas com diferentes doses de fertilizante mineral e inoculadas ou não com *Bacillus subtilis*, nas concentrações de 10^4 e 10^9 UFC mL⁻¹. As letras distintas indicam diferenças significativas conforme o teste de Scott-Knott a 5% de significância.

3.6. Carotenoide, Clorofila A e B

Os teores de clorofila a, clorofila b e carotenoides nas folhas de soja variaram em função dos tratamentos aplicados (gráfico 6). Para a clorofila a (Gráfico 6A), os valores oscilaram entre 0,13 mg mg⁻¹ e 0,24 mg mg⁻¹ de tecido fresco, com destaque para os tratamentos 2 e 7, que apresentaram os maiores valores médios. Em contrapartida, o tratamento 6 apresentou o menor teor observado. Apesar dessas variações, não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$).

No caso da clorofila b (Gráfico 6B), os teores médios situaram-se entre 0,18 mg mg⁻¹ e 0,32 mg mg⁻¹, com tendência semelhante à observada para a clorofila a. O tratamento 2 destacou-se com o maior valor médio, enquanto o tratamento 1 apresentou o menor. A análise estatística indicou que, embora existam flutuações nos valores, essas diferenças não foram significativas ($p > 0,05$).

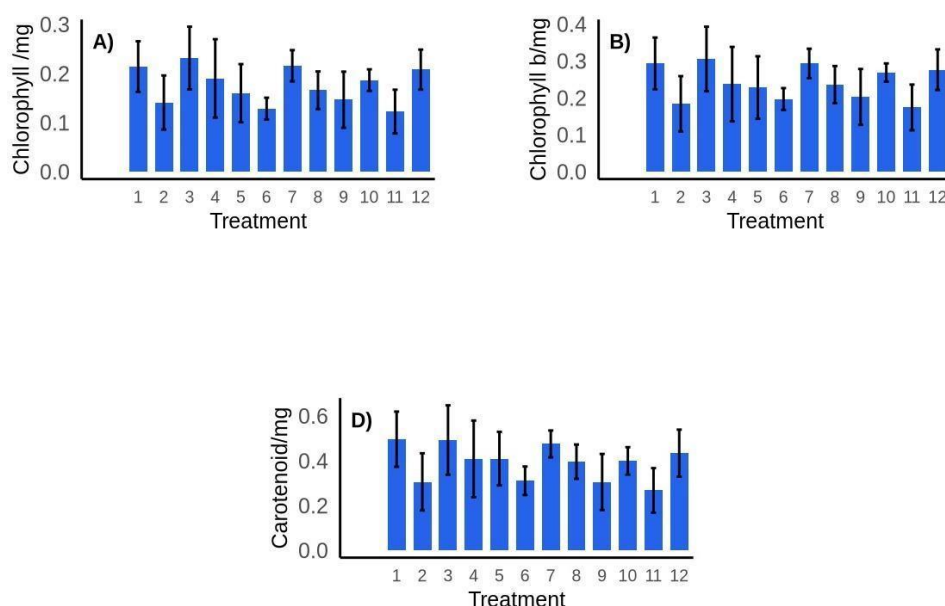


GRÁFICO 7. Teores médios de pigmentos fotossintéticos nas folhas de plantas de soja submetidas a diferentes tratamentos com fertilizante mineral e *Bacillus subtilis*. (A) Clorofila a; (B) Clorofila b; (C) Carotenoides. Os dados são expressos em mg de pigmento por mg de tecido fresco. Barras representam o desvio padrão ($n = X$). Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Quanto aos carotenoides (gráfico 8C), os valores oscilaram de $0,26 \text{ mg mg}^{-1}$ a $0,52 \text{ mg mg}^{-1}$. O tratamento 1 obteve o maior teor médio, seguido pelos tratamentos 2 e 3. Já o tratamento 11 apresentou o menor valor. Assim como observado para os demais pigmentos, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), indicando que a inoculação com *Bacillus subtilis* e as diferentes doses de fertilizante não influenciaram substancialmente a concentração desses pigmentos fotossintéticos sob as condições avaliadas.

3.7. Reisolamento de *Bacillus subtilis*

A recuperação de células viáveis de *Bacillus subtilis* variou entre os tratamentos e tecidos avaliados, como demonstrado no (gráfico 9). Os valores foram expressos

como $\log_{10}(\text{CFU} + 1)$ por grama de tecido fresco, evidenciando a distribuição diferencial da bactéria nas raízes, folhas e caules das plantas de milho.

As raízes foram o principal local de colonização, com destaque para o tratamento 11, que apresentou o maior valor médio ($6,10 \log \text{CFU g}^{-1}$), seguido pelos tratamentos 4 ($4,81$) e 2 ($4,52$). Os tratamentos 5 e 6 também apresentaram colonização moderada nas raízes (valores próximos de $3,2$), indicando a efetiva persistência do microrganismo mesmo sob diferentes condições experimentais.

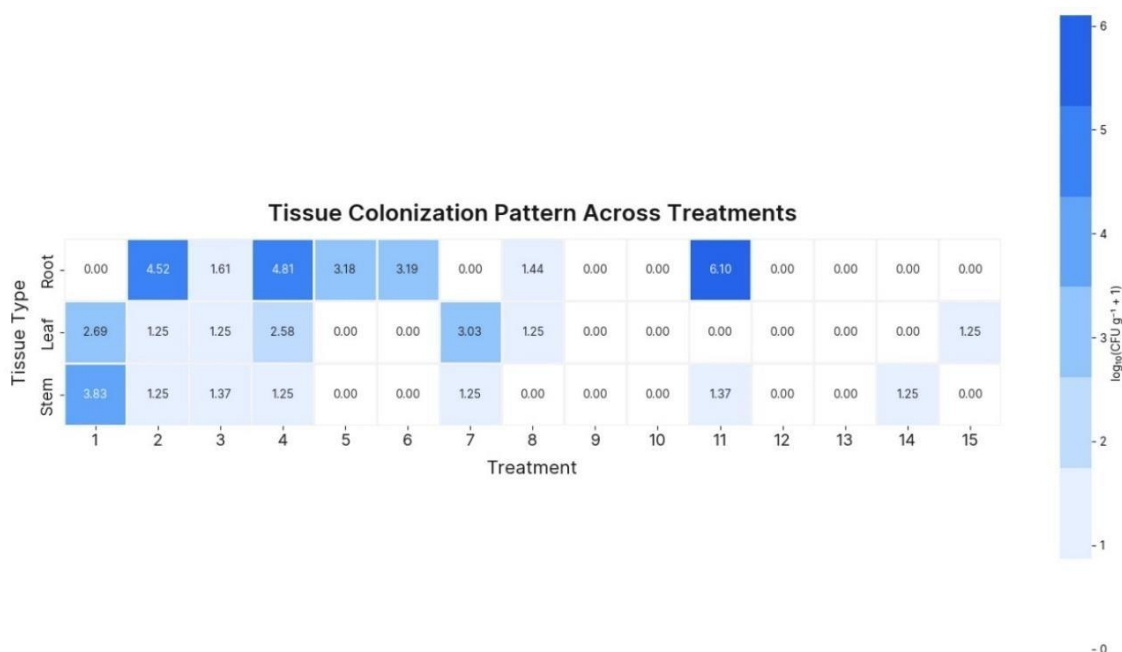


GRÁFICO 8. Padrão de colonização tecidual por *Bacillus subtilis* em diferentes tratamentos, representado em escala logarítmica ($\log_{10}(\text{CFU} + 1) \text{ g}^{-1}$). A coloração representa a intensidade média de unidades formadoras de colônia (UFC) recuperadas de raízes, folhas e caules de plantas de milho. Os dados indicam a presença e distribuição do microrganismo nos diferentes órgãos vegetais, evidenciando tratamentos com maior persistência e capacidade de colonização sistêmica.

Nas folhas, a colonização foi detectada principalmente nos tratamentos 6 e 7, com valores de $3,03$ e $1,25 \log \text{CFU g}^{-1}$, respectivamente. De maneira geral, os níveis de colonização foliar foram mais baixos e menos frequentes, o que é consistente com a menor densidade bacteriana esperada em tecidos aéreos. Em relação ao caule, a colonização foi mais expressiva nos tratamentos 1 ($3,83$) e 2 ($1,25$), com valores

decrecendo nos demais. A baixa frequência de recuperação de bactérias no caule nos demais tratamentos sugere uma limitação na translocação ou na adaptação do microrganismo a esse compartimento

3.2 Resultado campo

3.2.1 Massa Seca da Parte Aérea

A massa seca da parte aérea variou entre os tratamentos. O tratamento 1, que não recebeu fertilizante nem inoculação bacteriana, apresentou uma das menores médias de SDM, evidenciando as limitações de crescimento sem insumos externos. O tratamento 2, com 100% de fertilizante e sem *Bacillus subtilis*, obteve um valor elevado, confirmando a eficiência da adubação mineral. Por outro lado, o tratamento 3 (50% fertilizante + *Bacillus* a 10^4 UFC/mL) apresentou uma redução expressiva da SDM, sugerindo que essa combinação não foi eficaz.

Os tratamentos 4 e 5, ambos com 75% de fertilizante, mostraram valores intermediários, com leve melhora no tratamento 5 pela presença do inoculante. O tratamento 6, que uniu 100% de fertilizante com *Bacillus* a 10^4 UFC/mL, teve desempenho semelhante ao tratamento 2, sem ganho adicional. O destaque foi o tratamento 7, que mesmo com apenas 25% de fertilizante e *Bacillus* a 10^9 UFC/mL, apresentou a maior SDM, indicando forte efeito promotor do crescimento vegetal.

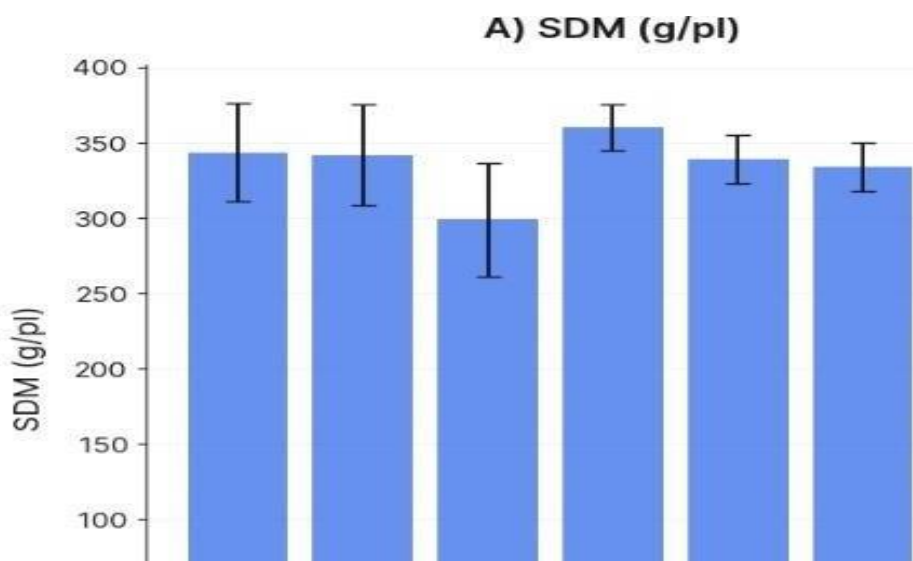


GRÁFICO 9. Massa seca da parte aérea de plantas de soja cultivadas sob diferentes doses de fertilizante mineral e inoculação com *Bacillus subtilis*. Valores médios da massa seca da parte aérea (SDM, g planta⁻¹) de soja em campo, sob sete tratamentos combinando diferentes doses de fertilizante mineral (0, 25, 50, 75 e 100%) e a presença ou ausência de *Bacillus subtilis* (10⁴ ou 10⁹ UFC mL⁻¹). Barras representam o desvio-padrão.

3.2.2 Fósforo na Parte Aérea

Os teores de fósforo na parte aérea também diferiram entre os tratamentos. Os tratamentos 1 e 2 apresentaram bons resultados, com o tratamento 2 ligeiramente superior, refletindo o aporte de fósforo pelo fertilizante mineral. O tratamento 3 teve a menor média de P-SDM, indicando possível limitação de absorção de fósforo nessa condição. Os tratamentos 4, 5 e 6 mostraram teores elevados e estáveis, especialmente o tratamento 5, sugerindo que a associação de fertilizante com *Bacillus* favoreceu a absorção de fósforo. O tratamento 7 novamente se destacou com alto teor de fósforo, comparável aos tratamentos com 100% de fertilizante, reforçando seu potencial.

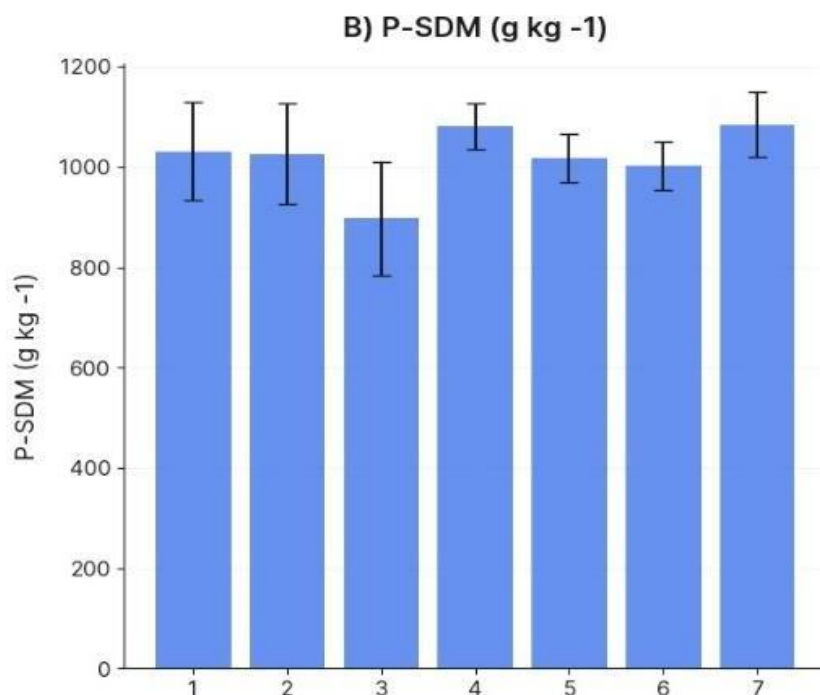


GRÁFICO 10. Teor de fósforo na massa seca da parte aérea de plantas de soja submetidas aos tratamentos experimentais. Teores médios de fósforo na parte aérea (P-SDM, g kg⁻¹) de soja cultivada em campo com diferentes combinações de fertilização mineral e inoculação com *Bacillus subtilis*. Barras indicam o desvio-padrão dos tratamentos.

3.2.3 Nitrogênio na Parte Aérea

Os tratamentos de 1 a 6 apresentaram teores semelhantes de nitrogênio na parte aérea, variando entre 50 e 60 g/kg, sem diferenças marcantes. No entanto, o tratamento 7 teve um salto significativo, ultrapassando os 70 g/kg, sendo o mais eficiente na acumulação de nitrogênio. Esse resultado sugere uma possível ação indireta do *Bacillus subtilis* na promoção da absorção ou fixação biológica de nitrogênio.

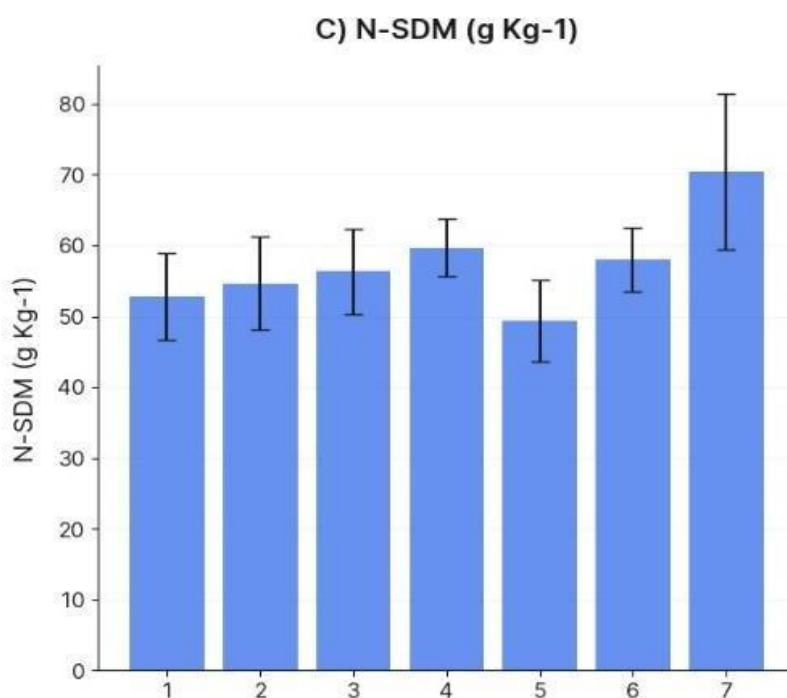


GRÁFICO 11. Teor de nitrogênio na parte aérea de plantas de soja submetidas a diferentes tratamentos. Conteúdo médio de nitrogênio na massa seca da parte aérea (N-SDM, g kg⁻¹) de plantas de soja cultivadas em campo sob sete tratamentos experimentais. Barras indicam o desvio-padrão.

3.2.4 Nitrogênio nos Grãos

O teor de nitrogênio nos grãos foi mais baixo no tratamento 1, o controle sem insumos. Houve aumento progressivo nos tratamentos 2 a 5, indicando que tanto o fertilizante quanto o *B. subtilis* contribuíram para a nutrição nitrogenada dos grãos. O tratamento 6 teve desempenho levemente inferior ao tratamento 5, sugerindo que a inoculação não gerou ganho adicional nesse caso. Já o tratamento 7 apresentou valores elevados, embora não tenha sido o maior, reforçando sua eficiência mesmo com baixa adubação.

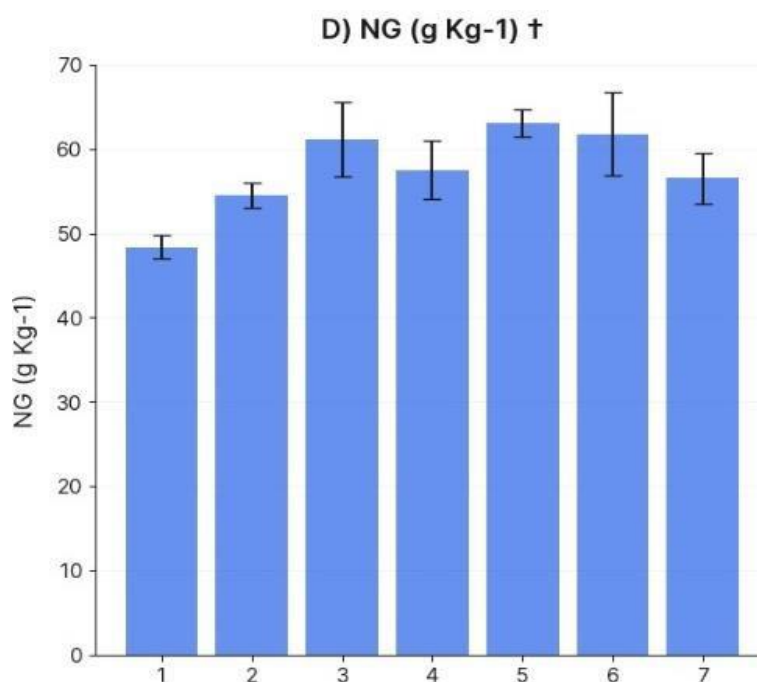


GRÁFICO 12. Acúmulo de nitrogênio nos grãos de soja sob diferentes doses de fertilizante e inoculação bacteriana. Teores médios de nitrogênio nos grãos (NG, g kg⁻¹) de soja cultivada em campo sob diferentes combinações de adubação e inoculação com *Bacillus subtilis*. indica tendência à diferença significativa ($p < 0,10$). Barras indicam o desvio-padrão.

3.2.5 Massa de 100 Grãos

A massa de 100 grãos foi relativamente constante entre os tratamentos, variando pouco. O tratamento 4 apresentou o maior valor, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos, indicando que essa variável não foi sensível às alterações de fertilização e inoculação com *Bacillus*.

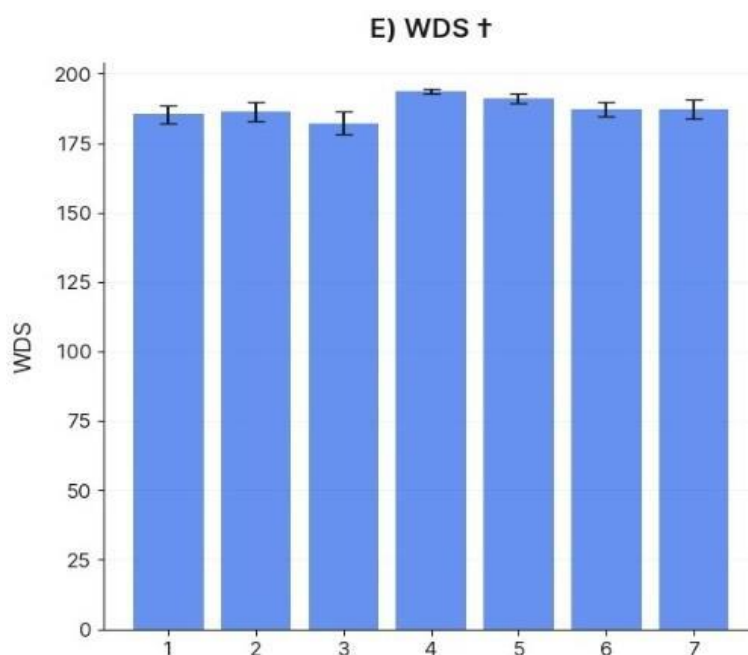


GRÁFICO 13. Massa de 100 grãos de soja em função dos tratamentos com fertilizante e *Bacillus subtilis*. Massa média de 100 grãos (WDS) de soja cultivada em campo, considerando diferentes doses de fertilizante e a presença ou ausência de inoculação bacteriana. † indica tendência à diferença significativa ($p < 0,10$). Barras representam o desvio-padrão.

3.2.6 Produtividade

A produtividade variou consideravelmente. O tratamento 1 apresentou uma das menores produtividades, sendo similar ao tratamento 2, o que indica que apenas o fertilizante, sem *Bacillus*, não foi suficiente para maximizar a produção. O tratamento 3 teve a menor produtividade de todas, sugerindo que 50% de fertilizante com *Bacillus* a 10^4 UFC/mL foi insuficiente.

Os tratamentos 4 e 5 demonstraram melhora, com o tratamento 5 superando o 4, indicando sinergia entre o fertilizante e a bactéria. O tratamento 6 teve boa produtividade, mas foi o tratamento 7 que se destacou, atingindo a maior produção mesmo com apenas 25% de fertilizante, graças à alta concentração do inoculante (10^9 UFC/mL). Esse resultado evidencia o grande potencial do *Bacillus subtilis* como substituto parcial da adubação mineral.

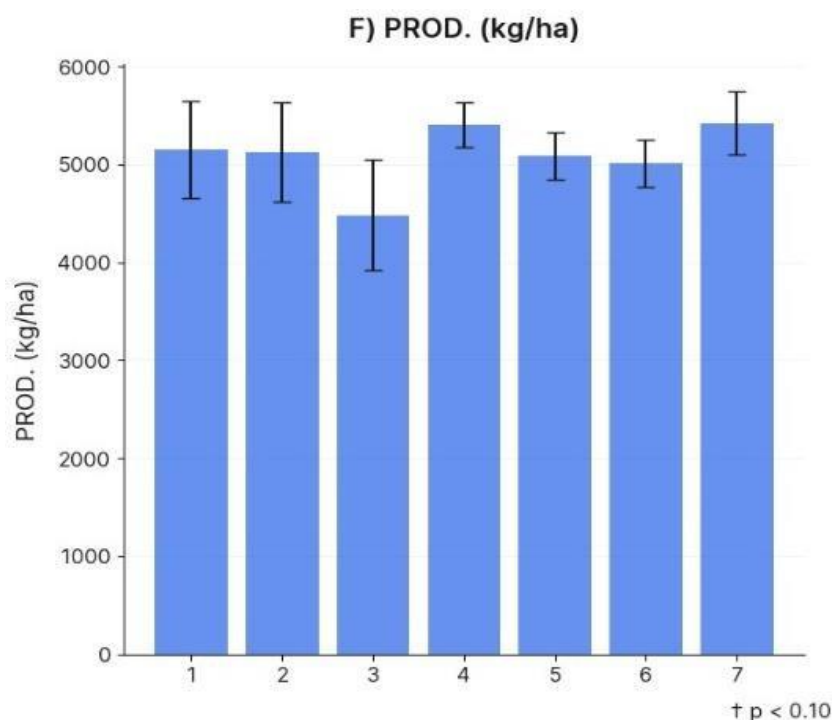


GRÁFICO 14. Produtividade de grãos de soja cultivada em campo com diferentes manejos nutricionais e biológicos. Produtividade média (PROD., kg ha⁻¹) de soja em campo, considerando sete tratamentos envolvendo diferentes porcentagens de fertilizante mineral e concentrações de *Bacillus subtilis*. Barras indicam o desvio-padrão entre repetições.

4 DISCUSSAO

A inoculação com *Bacillus subtilis* demonstrou efeitos altamente positivos na nutrição e no crescimento de plantas de soja cultivadas em casa de vegetação, mesmo sob diferentes níveis de fertilização mineral. Os dados obtidos revelam que a bactéria não apenas contribui para o aumento do teor de nutrientes nas plantas, mas também potencializa a eficiência de uso dos insumos aplicados, reforçando seu papel como bioinsumo promissor em sistemas agrícolas sustentáveis.

O teor de nitrogênio na parte aérea (NPA) aumentou significativamente nos tratamentos com inoculação bacteriana, especialmente com a concentração de 10⁹ UFC mL⁻¹, mesmo em ausência total de fertilizante (F0B9). Esse resultado sugere que

B. subtilis pode atuar por múltiplos mecanismos, como estímulo à absorção de nitrogênio, mineralização de compostos orgânicos, produção de auxinas e citocininas, e modulação de genes relacionados à assimilação de nutrientes (Marchão et al., 2025; Khan et al., 2024). De acordo com Lima et al. (2024), a aplicação de *B. subtilis* em soja sob fertilização reduzida proporcionou aumentos expressivos no teor de nitrogênio foliar e na produtividade de grãos, o que está de acordo com os dados observados no tratamento F25B9. Além disso, Carvalho et al. (2025) relataram que a co-inoculação com PGPRs, incluindo *B. subtilis*, aumentou a eficiência do uso de nitrogênio e a redistribuição para tecidos com alta demanda metabólica.

No caso do teor de nitrogênio nas raízes (NR), observou-se um aumento com a inoculação bacteriana, embora em menor intensidade do que na parte aérea. A redução dos teores de NR nos tratamentos com 100% de fertilizante e bactéria (F100B9), em comparação ao F100B0, pode indicar maior translocação do nutriente para os órgãos aéreos, favorecida pela modulação metabólica induzida pela bactéria (Silva et al., 2024; Wang et al., 2025). Zhang et al. (2024) reforçam que *B. subtilis* estimula a eficiência fisiológica do transporte de nutrientes, reduzindo seu acúmulo desnecessário nas raízes e otimizando a alocação para folhas e caules.

Quanto ao teor de fósforo nas raízes (PR), os dados evidenciam aumento progressivo com a inoculação, mesmo em solos não fertilizados. Essa resposta está relacionada à capacidade de *B. subtilis* em solubilizar formas insolúveis de fósforo, como fosfatos de cálcio e ferro, por meio da produção de ácidos orgânicos e enzimas como a fosfatase ácida (Li et al., 2024; Jensen et al., 2024). Marchão et al. (2025) demonstraram que esse mecanismo permite que a bactéria aumente a absorção de fósforo em solos tropicais pobres, melhorando o desempenho da soja mesmo em condições adversas. Araujo et al. (2021) também apontaram que a atuação de *B. subtilis* na zona da rizosfera pode alterar o pH local e disponibilizar nutrientes retidos em complexos inorgânicos.

O comportamento do fósforo na parte aérea (PPA) seguiu tendência semelhante à observada nas raízes. A inoculação com *B. subtilis*, especialmente no tratamento F100B9, resultou nos maiores teores de fósforo na parte aérea, o que

reforça a hipótese de que o microrganismo favorece não apenas a absorção, mas também a redistribuição interna do nutriente (Carvalho et al., 2025; Silva et al., 2024). Essa redistribuição pode estar associada à ativação de transportadores de membrana e ao desenvolvimento de tecidos vasculares mais eficientes, como relatado por Wang et al. (2025) e Guimarães et al. (2024).

A produção de biomassa também foi influenciada de forma significativa pela inoculação bacteriana. A massa seca da parte aérea (MSPA) aumentou progressivamente com a aplicação de *B. subtilis*, mesmo sob doses reduzidas de fertilizante. Isso evidencia que a bactéria exerce ação bioestimulante, ampliando a capacidade da planta em utilizar os nutrientes disponíveis (Lima et al., 2024; Khan et al., 2024). Zhang et al. (2024) destacam que a ação de *B. subtilis* sobre o metabolismo do nitrogênio e a produção de hormônios promove o acúmulo de matéria seca e o aumento da eficiência fotossintética. Nos tratamentos com 50% e 75% de fertilizante combinados com alta concentração bacteriana (F50B9 e F75B9), os valores de MSPA foram semelhantes aos observados com 100% de adubação, o que aponta para uma possível redução da necessidade de fertilizante mineral.

Por fim, a massa seca das raízes (MSR) também foi beneficiada pela presença de *B. subtilis*, com destaque para os tratamentos F0B9 e F100B9. Esse resultado sugere que a bactéria atua diretamente sobre o desenvolvimento radicular, possivelmente por meio da produção de auxinas e da indução da ramificação lateral e formação de pelos radiculares (Araujo et al., 2021). Li et al. (2024) demonstraram que *B. subtilis* altera o sistema radicular, aumentando sua densidade e volume, o que amplia a capacidade de exploração do solo e favorece a absorção de nutrientes. Essa resposta é particularmente vantajosa em solos tropicais com baixa fertilidade natural, pois permite maior adaptação das plantas a ambientes com disponibilidade restrita de recursos.

A variação significativa na massa seca da parte aérea (SDM) entre os tratamentos reflete diretamente a eficácia da combinação de fertilização mineral e inoculação com *Bacillus subtilis*, especialmente em condições de restrição nutricional. A baixa SDM observada no tratamento controle, ressalta a dependência crítica da soja

por fertilização adequada para seu crescimento (Chagas Junior et al., 2022). Por outro lado, a alta eficiência do tratamento com apenas 25% de fertilizante combinado a uma alta concentração bacteriana (10^9 UFC/mL) reforça o potencial dos inoculantes microbianos em substituir parcialmente insumos químicos, alinhando-se com tendências atuais de agricultura sustentável (Leite et al., 2022; Colonia et al., 2021).

A redução observada no tratamento com 50% de fertilizante e baixa concentração bacteriana (10^4 UFC/mL) sugere uma interação desfavorável entre a dose de fertilizante e a concentração de inoculante, possivelmente decorrente de competição ou desequilíbrio nutricional promovido por concentrações bacterianas insuficientes para promover benefícios tangíveis (Moretti et al., 2024).

Quanto ao fósforo na parte aérea, os resultados destacam que a inoculação bacteriana pode potencializar a absorção desse nutriente essencial, especialmente em tratamentos com níveis intermediários de fertilização (75%). Esses dados corroboram estudos anteriores que demonstram a capacidade de *B. subtilis* de solubilizar fosfatos insolúveis, tornando-os biodisponíveis para as plantas (Rosa et al., 2024; Escolar et al., 2021). A similaridade do tratamento com apenas 25% de fertilizante ao tratamento com 100% sugere forte atividade solubilizadora, apontando o inoculante como agente fundamental para redução de insumos (Rodrigues et al., 2024).

A elevação notável dos teores de nitrogênio na parte aérea no tratamento com alta concentração de *Bacillus subtilis* (10^9 UFC/mL) sugere que esta bactéria atua não apenas diretamente, mas também pode estimular processos associados à fixação biológica de nitrogênio (FBN), possivelmente ao estimular populações naturais de rizóbios (Hungria et al., 2023; Leite et al., 2022). Tal fenômeno tem grande relevância para reduzir a dependência de fertilizantes nitrogenados, que apresentam altos custos econômicos e ambientais (Ferreira et al., 2024).

A distribuição do nitrogênio nos grãos evidenciou que mesmo sob condições reduzidas de fertilização mineral, a inoculação com *B. subtilis* pode contribuir efetivamente para a nutrição nitrogenada final dos grãos. Estudos recentes sugerem que o Bacilos, além de promover o crescimento radicular e a absorção de nutrientes,

induz alterações fisiológicas que aumentam a eficiência do uso de nitrogênio (Silva et al., 2024; Escolar et al., 2021).

A estabilidade observada na massa de 100 grãos entre tratamentos sugere que este parâmetro é menos influenciado por variações na disponibilidade de nutrientes ou pela presença de microrganismos específicos, corroborando achados anteriores que indicam outros fatores, como genética e condições ambientais gerais, como predominantes nesta variável (Teixeira et al., 2024; Moraes et al., 2023).

Quanto à produtividade, a superioridade do tratamento com alta concentração bacteriana (10^9 UFC/mL) associada a baixa dose de fertilizante (25%) é altamente promissora. Estes resultados reforçam a tese de que inoculantes bacterianos podem representar uma alternativa sustentável e economicamente vantajosa para sistemas agrícolas intensivos (Chagas Junior et al., 2022; Martins et al., 2024; Leite et al., 2022).

O conjunto dos resultados obtidos confirma amplamente a capacidade do *Bacillus subtilis* de contribuir para sistemas agrícolas sustentáveis, aumentando a eficiência da absorção e utilização de nutrientes, especialmente fósforo e nitrogênio. Além disso, sugere-se que a dose bacteriana utilizada é crítica para maximizar o desempenho, destacando a importância de estudos detalhados sobre concentração ideal e compatibilidade com diferentes níveis de fertilização mineral (Moretti et al., 2024; Rodrigues et al., 2024).

Portanto, a estratégia de redução do uso de fertilizantes minerais por meio do uso de inoculantes bacterianos como *Bacillus subtilis* apresenta grande potencial técnico e econômico, oferecendo uma solução robusta para os desafios atuais de sustentabilidade na agricultura (Martins et al., 2024; Teixeira et al., 2024; Colonia et al., 2021).

5. Conclusão

Os resultados obtidos neste capítulo confirmam de forma clara a eficácia da inoculação com *Bacillus subtilis* como estratégia de manejo biológico para a cultura da soja, tanto em condições controladas de casa de vegetação quanto em campo. O

microrganismo apresentou ação promotora de crescimento vegetal, refletida no aumento significativo dos teores de nitrogênio e fósforo na parte aérea e nas raízes, bem como no acúmulo de biomassa, mesmo sob condições de adubação reduzida.

A aplicação de *B. subtilis*, especialmente na concentração de 10^9 UFC mL⁻¹, demonstrou potencial para substituir parcialmente a adubação mineral convencional, promovendo respostas agrônômicas similares ou superiores às obtidas com a fertilização total. Este efeito foi evidenciado nos parâmetros nutricionais (N e P), morfológicos (massa seca da parte aérea e das raízes), e produtivos (teor de N nos grãos e produtividade final), destacando a atuação sinérgica entre o inoculante e os fertilizantes em doses intermediárias (25 a 75%).

Adicionalmente, a modulação positiva do metabolismo vegetal, o estímulo à eficiência no uso de nutrientes e a redistribuição interna de N e P sugerem que o uso de *B. subtilis* pode contribuir não apenas para a sustentabilidade do sistema produtivo, mas também para a melhoria da eficiência fisiológica da planta, o que é altamente desejável em contextos de agricultura de baixa emissão e menor dependência de insumos químicos.

Dessa forma, os objetivos foram atendidos foi demonstrada a eficácia da inoculação com *Bacillus subtilis* na promoção do crescimento da soja observou-se que a combinação do microrganismo com doses reduzidas de fertilizante mineral é eficiente para manter ou até melhorar os parâmetros nutricionais e produtivos e validou-se, em campo, a viabilidade da aplicação do inoculante como alternativa tecnológica para sistemas de cultivo mais sustentáveis, produtivos e economicamente viáveis.

5. Referencias

- ADELEK, B. S. et al. Plant growth-promoting root-colonizing bacterial endophytes. *Rhizosphere*, v. 20, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100442>
- ALVES, M. et al. Spatial multivariate optimization for a sampling redesign with a reduced sample size of soil chemical properties. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 47, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcs/i/2023.v47/>. Acesso em: 6 maio 2025.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. Microbial populations of rhizosphere. In: *Encyclopedia of Soil Science*, 3. ed. CRC Press, 2016. p. 1490–1493. DOI: <https://doi.org/10.1201/b11634-307>
- BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth – a critical assessment. *Advances in Agronomy*, v. 108, p. 77–136, 2010.
- BATISTA, A. et al. *Megathyrus maximus* addition in total mixed ration on performance, metabolism, and quality of lamb carcasses. *Ciência Rural*, v. 55, n. 3, 2025. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/i/2025.v55n3/>. Acesso em: 6 maio 2025.
- BERG, G. et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, v. 8, n. 1, p. 103, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- BLAKE, C. et al. *Bacillus subtilis* as a plant-growth-promoting bacterium: mechanisms and applications in sustainable agriculture. *Microorganisms*, v. 10, n. 3, p. 1–19, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030555>
- CASTRO, R. et al. Interrelationship between potassium rates and the efficiency of Bt genes in the control of *Spodoptera frugiperda*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 58, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/i/2023.v58/>. Acesso em: 6 maio 2025.
- CHAGAS JUNIOR, A. F. et al. *Bacillus subtilis* Bs10 como inoculante eficiente para promoção de crescimento em soja. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 43, n. 4, p. 1769–1786, jul./ago. 2022. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2022v43n4p1769>
- COLONIA, B. S. O. et al. Eficiência de *Bacillus subtilis* Bs10 como inoculante promotor de crescimento em soja. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 14, e441101422141, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i14.22141>
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). *Boletim Logístico – Novembro de 2024*. Brasília: CONAB, 2024. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/boletim-logistico/item/download/56170_f7cbc8155093e2539cdf3abe0b55e703. Acesso em:

25 abr. 2025.

COSTA, D. et al. Combining proximal and remote sensors in spatial prediction of five micronutrients and soil texture in a case study at farmland scale in southeastern Brazil. *Agronomy Journal*, v. 117, p. 501–512, 2025. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/365038240>. Acesso em: 6 maio 2025.

DHAYALAN, S. et al. Current status and future prospects of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, v. 21, p. 2025–2049, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00488-y>

FERREIRA, G. et al. A meta-analysis approach to understand complexity in soil biodiversity and phosphorus acquisition in plants. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 183, e108715, 2024. Disponível em: <https://repository.rothamsted.ac.uk/journal/83y0q/soil-biology-and-biochemistry>. Acesso em: 6 maio 2025.

GARCIA, G. F. et al. Bactérias endofíticas e sua interação com plantas hospedeiras. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 17, n. 1, p. 50–61, 2019.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, v. 2012, Article ID 963401, 2012. DOI: <https://doi.org/10.6064/2012/963401>

HUNGRIA, M. et al. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Plant and Soil*, v. 481, p. 251–267, 2023.

LEMOS, L. N. et al. Metagenomics: Advances and perspectives in agriculture. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 50, n. 1, p. 51–66, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42770-018-0008-0>

LIMA, J. et al. Caracterização morfológica de grãos de pólen e sementes de espécies do gênero *Passiflora* com potencial ornamental. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 49, 2025. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cagro/i/2025.v49/>. Acesso em: 6 maio 2025.

MARTINS, A. et al. Techno-functionalities and antioxidant capacity of chickpea flour fermented by *Lactobacillus casei* or by co-culture. *Ciência Rural*, v. 54, n. 10, 2024. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/i/2024.v54n10/>. Acesso em: 6 maio 2025.

MEENA, R. S. et al. Impacts of agrochemicals on soil microbiota and management: A review. *Land*, v. 9, n. 2, p. 1–15, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/land9020034>

MENDES, P. et al. Accuracy of tree height estimation with model extracted from artificial neural network and new linear and nonlinear models. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 46, 2024. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/asagr/i/2024.v46/>. Acesso em: 6 maio 2025.

MENEZES, L. A. S. et al. Fatores que afetam a colonização de plantas por microrganismos promotores de crescimento. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 44, e0190163, 2020. DOI: <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20190163>

MOLINA-SANTIAGO, C. et al. The interaction between *Bacillus subtilis* and plants: A molecular dialogue. *Environmental Microbiology Reports*, v. 11, n. 5, p. 701–714, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12705>

MORAES, E. et al. Caracterização morfológica e identificação molecular de

Colletotrichum spp. associado a Schlumbergera gaertneri. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 18, n. 2, 2023. Disponível em: <https://www.agraria.pro.br/ojs32/index.php/RBCA/issue/view/68>. Acesso em: 6 maio 2025.

MORETTI, L. et al. Condutividade hidráulica e atributos físicos do solo em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 28, n. 5, p. 299–305, 2024. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/6WqpKnsYKWL8kyCxFjzNJnh/?lang=pt>. Acesso em: 6 maio 2025.

OLIVEIRA, C. A. et al. Solubilização de fosfato por microrganismos: mecanismos genéticos e aplicação. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v. 33, n. 2, p. 595–617, 2016.

PEREIRA, M. G. et al. Efeito de Bacillus spp. sobre a promoção do crescimento e supressão de fitopatógenos em mudas de tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 54, e00360, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00360>

PYLRO, V. S. et al. Exploring the resistome, virulome and mobilome in biofertilizers used in Brazil. *Scientific Reports*, v. 10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76971-z>

RAMÍREZ-POOL, J. A. et al. Bacillus species as biocontrol agents and plant growth promoters: current applications and future perspectives. *Agronomy*, v. 14, n. 1, p. 55, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy14010055>

RODRIGUES, T. et al. Crescimento radicular e produtividade da soja sob diferentes manejos de fertilidade do solo. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 46, e59879, 2024. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/asagr/a/GZH8K9XBHntmWkRzS5TS3Xt/?lang=pt>. Acesso em: 6 maio 2025.

ROSA, R. et al. Controlled interkingdom cell-cell communication between Saccharomyces cerevisiae and Bacillus subtilis using quorum-sensing peptides. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1477298>

SANTOS, J. M. et al. Microbial culture collections: strategies for conservation and use in agriculture and biotechnology. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 51, p. 1–12, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00184-0>

SANTOS, V. L. dos et al. Bacillus subtilis na indução de resistência e crescimento de plantas: uma revisão. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 42, n. 1, p. 282–294, 2019. DOI: <https://doi.org/10.19084/RCA18202>

SILVA, K. et al. Solubilização de fosfato por bactérias isoladas da rizosfera de plantas cultivadas em solos da Amazônia. *Acta Amazonica*, v. 49, n. 4, p. 349–356, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-4392201804072>

SINGH, R. P. et al. Role of microbial inoculants in integrated nutrient management. In: *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*. Springer, New Delhi, 2016. p. 197–220. DOI: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2647-5_12

SOUZA, D. R. de; BITTENCOURT, S. R. A relevância da soja na economia brasileira e os impactos da produção no mercado global. *Revista de Economia e Desenvolvimento*, v. 36, n. 2, p. 45–60, 2020.

TEIXEIRA, J. et al. Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas de cultivo com soja. *Scientia Agricola*, v. 81, e02301, 2024. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sa/a/fbN49FkPTCFVNgx6qRMBR9s/?lang=pt>. Acesso em: 6 maio 2025.

VASSILEV, N. et al. Biotechnological strategies for improving the efficiency of phosphate solubilizing microorganisms in agriculture. *Geomicrobiology Journal*, v. 37, n. 9, p. 777–786, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1713720>

WANG, W. et al. Emerging roles of *Bacillus subtilis* in sustainable agriculture: from molecular mechanisms to field applications. *Journal of Advanced Research*, v. 45, p. 145–160, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.01.003>