

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

**AVALIAÇÃO DE *Trichoderma harzianum* E
Bacillus subtilis EM ASSOCIAÇÃO COM PÓ DE
ROCHA NO CRESCIMENTO E
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE
MILHO**

Eng.º Agr.º Pedro Henrique Vinha Silva

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

**AVALIAÇÃO DE *Trichoderma harzianum* E
Bacillus subtilis EM ASSOCIAÇÃO COM PÓ DE
ROCHA NO CRESCIMENTO E
DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE
MILHO**

Discente: Pedro Henrique Vinha Silva

Orientador: Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo

Coorientador: Prof. Dr. César Martoreli da Silveira

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinária Unesp
FCAV – Campus de Jaboticabal, para
obtenção do título de Mestre em
Microbiologia Agropecuária.**

FICHA CATALOGRÁFICA

S586a	Silva, Pedro Henrique Vinha Avaliação de <i>Trichoderma harzianum</i> e <i>Bacillus subtilis</i> em associação com pó de rocha no crescimento e desenvolvimento inicial de plantas de milho / Pedro Henrique Vinha Silva. -- Jaboticabal, 2023 69 f. : tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Everlon Cid Rigobelo Coorientador: César Martoreli da Silveira 1. Zea mays L.. 2. Mineralização. 3. Rochagem. 4. Bioinsumos. 5. rizobactérias. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DE *Trichoderma harzianum* E *Bacillus subtilis* EM ASSOCIAÇÃO COM PÓ DE ROCHA PARA O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE MILHO

AUTOR: PEDRO HENRIQUE VINHA SILVA

ORIENTADOR: EVERLON CID RIGOBELLO

COORDINADORA: ROBERTA MENDES DOS SANTOS

COORDINADOR: CÉSAR MARTORELI DA SILVEIRA

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



Documento assinado digitalmente

EVERLON CID RIGOBELLO

Data: 20/04/2023 09:41:03-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. EVERLON CID RIGOBELLO (Participação Virtual)

Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal

Profa. Dra. PATRICIA AMOROSO DE ANDRADE (Participação Virtual)

Faculdade Barretos UNIFEB / Barretos/SP



Documento assinado digitalmente

PATRICIA AMOROSO DE ANDRADE

Data: 21/04/2023 10:46:52-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LETÍCIA ANE SIZUKI NOCITI DEZEM (Participação Virtual)

Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente

LETICIA ANE SIZUKI NOCITI DEZEM

Data: 24/04/2023 12:45:22-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 11 de abril de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Pedro Henrique Vinha Silva – Nascido em 13 de agosto de 1998, na cidade de SãoBernardo do Campo – SP, Brasil. Filho de Solange Vinha e Gilberto Silva. Em 2020 se graduou em Agronomia pelo Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos - UNIFEB, onde se interessou pela área acadêmica em seu primeiro ano defaculdade, e realizou a primeira de quatro iniciações científicas. Foi bolsista PIBIC por 3 anos consecutivos, e desenvolveu pesquisa nas áreas de microbiologia, ecologia e tecnologia de sementes. Após sua a graduação, trabalhou por mais de 1 ano na empresa Alfa Agrotec, onde era responsável pela produção e qualidade de produtos biológicos a base de fungos filamentosos. No mesmo ano ingressou no mestrado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, no programa de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária. Atualmente trabalha no SeedGrowth – Bayer, sendo responsável pelo laboratório de qualidade do tratamento de sementes.

“No matter what people perceive of me, I always shine through at the end of the day. So, I had a lot of people try to tear me down, but I'm here. And I have always been myself, and I have always wanted that, and I have been graceful, and I have tried to handle myself with as much class, and it's only because I know how hard I work.”

Selena Gomez.

Por mim e para mim!

Eu dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Solange Vinha e Gilberto Silva, por todo apoio ao longo de toda a minha carreira, e ao amor por toda vida.

Ao Prof. Dr. César M. Silveira, um exemplo de profissional a ser seguido, que sempre acreditou no meu potencial.

Ao Prof. Dr. Everlon Cid Rigobelo, por todo o aprendizado e confiança.

Aos meus amigos Camila Bertolazzo, Edvan Frezarin e Lilian Dutra por toda ajuda que me foi dada no decorrer desta pesquisa.

Imensa gratidão a minha amiga Ane Gabriele Vaz Souza, que foi uma peça fundamental e necessária no decorrer desta caminhada.

E a Deus, por tudo.

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Milho (<i>Zea mays</i> L.).....	16
2.1.1 Cultura do Milho	16
2.1.2 Manejo e Cuidados.....	17
2.2 <i>Trichoderma harzianum</i>	20
2.2.1 Promotor do Crescimento de Plantas.....	21
2.3 <i>Bacillus subtilis</i>	22
2.3.1 Fixação Biológica de Nitrogênio (N)	23
2.3.2 Promoção no Crescimento de Plantas	24
2.4 Pó de Rocha.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Localização	27
3.2 Microrganismos	28
3.3 Condução e Delineamento Experimental	28
3.4 Caracterização Pó de Rocha.....	30
3.4.1 Difração de Raios X.....	30
3.4.2 Fluorescência de Raios X.....	30
3.5 Ensaio de Compatibilidade dos Microrganismos com o Pó de Rocha.....	30
3.6 Análises de Solo.....	31
3.7 Análises de Desenvolvimento Vegetativo.....	32
3.7.1 Diâmetro de Colmo e Altura de Planta	32
3.7.2 Índice de Área Foliar	32
3.7.3 Matéria Seca de Parte Área e Raiz	32
3.7.4 Análises Estatística: Desenvolvimento Vegetativo	33
3.8 Análises Químicas da Biomassa Vegetal	33
3.8.1 Preparo das Amostras.....	33
3.8.2 Nitrogênio (N) (Método de Kjeldahl)	34
3.8.4 Digestão Nitro-Perclórica (P, K, S, Ca e Mg).....	34
3.8.5 Digestão Dos Elementos na Amostra Diluída a Partir da Digestão Nitro-Perclórica	35

3.8.5.1 Fósforo (P)	35
3.8.5.2 Potássio (K)	37
3.8.5.3 Enxofre (S)	37
3.8.5.4 Cálcio (Ca)	39
3.8.5.5 Magnésio (Mg)	40
4 RESULTADOS.....	40
4.1 Características Pó de Rocha.....	40
4.2 Análises Química do Solo	42
4.3 Análises de Compatibilidade	43
4.4 Análises Agronômicas e Químicas	45
4.4.1 Experimento 1: <i>Trichoderma harzianum</i> + Pó de Rocha	45
4.4.2 Experimento 2: <i>Bacillus subtilis</i> + Pó de Rocha	48
4.4.3 Experimento 3: <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> + Pó de Rocha.....	50
5 DISCUSSÃO	53
5.1 Experimento 1: <i>Trichoderma harzianum</i> + Pó de Rocha.....	53
5.2 Experimento 2: <i>Bacillus subtilis</i> + Pó de Rocha	55
5.3 Experimento 3: <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> + Pó de Rocha.....	57
6 CONCLUSÃO	58
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

AVALIAÇÃO DE *Trichoderma Harzianum* E *Bacillus subtilis* EM ASSOCIAÇÃO COM PÓ DE ROCHA NO CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE MILHO

RESUMO -

O uso de pó de rocha em conjunto com microrganismos promotores do crescimento de plantas pode ser uma excelente estratégia para reduzir as doses de fertilizantes químicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento e desenvolvimento do milho com a aplicação de pó de rocha e da bactéria *Bacillus subtilis* e do fungo *Trichoderma harzianum* isoladamente, em misturas e com 50 e 100% da dose recomendada de fertilizante para a cultura em condições controladas. Foi avaliado o desenvolvimento vegetativo das plantas de milho aos 40 dias após a germinação, por meio dos parâmetros de diâmetro de colmo, índice de área foliar, e a matéria seca de parte aérea e raiz. A análise química da biomassa vegetal da parte aérea também foi realizada, e os nutrientes N, P, K, Ca e Mg foram quantificados. Os resultados mostram que os parâmetros analisados, como altura da planta, índice de área foliar, matéria seca da parte aérea e das raízes, aumentaram com a aplicação de pó de rocha e inoculação de microrganismos de forma isolada, em comparação com seus respectivos tratamentos de controle. Notou-se, a partir das análises químicas, que os tratamentos com 50% da adubação convencional + pó de rocha junto com a aplicação dos microrganismos de forma isolada, teve teores de N, K, Ca e Mg semelhantes ao da testemunha com 100% da adubação convencional. Os resultados também mostram que a inoculação com dois microrganismos, *B. subtilis* e *T. harzianum*, na forma de mistura não promoveu aumento nos parâmetros analisados em comparação com a inoculação dos microrganismos de forma isolada. Pode-se concluir que os benefícios da aplicação de pó de rocha aumentaram quando aplicados à bactéria *B. subtilis* e ao fungo *T. harzianum* em plantas de milho. Portanto, esses resultados sugerem que a aplicação de pó de rocha com esses microrganismos pode ser usada para reduzir a necessidade de fertilizantes químicos no crescimento e desenvolvimento inicial de plantas de milho.

Palavras-chaves: *Zea mays* L. – mineralização – rochagem – bioinsumos - rizobactérias

EVALUATION OF *Trichoderma Harzianum* AND *Bacillus subtilis* IN ASSOCIATION WITH ROCK DUST ON THE GROWTH AND BEGINNING DEVELOPMENT OF CORN PLANTS

ABSTRACT -

The use of rock dust in conjunction with plant growth promoting microorganisms can be an excellent strategy to reduce the doses of chemical fertilizers. The objective of the present work was to evaluate the growth and development of corn with the application of rock dust and the bacteria *Bacillus subtilis* and the fungus *Trichoderma harzianum* alone, in mixtures and with 50 and 100% of the recommended dose of fertilizer for the crop under controlled conditions. The vegetative development of corn plants was evaluated at 40 days after germination, through the parameters of stem diameter, leaf area index, and the dry matter of the aerial part and root. The chemical analysis of the aboveground plant biomass was also performed, and the nutrients N, P, K, Ca, and Mg were quantified. The results show that the parameters analyzed, such as plant height, leaf area index, and dry matter of the aerial part and roots, increased with the application of rock dust and microorganism inoculation alone, in comparison with their respective control treatments. It was noted from the chemical analyses that the treatments with 50% of conventional fertilization + rock powder together with the application of microorganisms alone, had similar N, K, Ca and Mg contents as the control with 100% conventional fertilization. The results also show that the inoculation with two microbes, *B. subtilis* and *T. harzianum*, in the form of a mixture did not promote an increase in the parameters analyzed in comparison with the inoculation of microorganisms alone. It can be concluded that the benefits of the application of rock dust increased when applied to corn plants with the bacteria *B. subtilis* and the fungus *T. harzianum*. Therefore, these results suggest that the application of rock dust with these microorganisms can be used to reduce the need for chemical fertilizers on the growth and early development of corn plants.

Keywords: *Zea mays* L. - mineralization - rock farming - bioinputs - rhizobacteria.

1. INTRODUÇÃO

O milho é uma gramínea pertencente à família Poaceae, do gênero *Zea* espécie *Zea mays* L., que teve sua origem no México (Freitas e Bandel, 2001). Muito utilizado em todo o mundo, o milho é uma cultura muito versátil, tendo como seus principais destinos o consumo humano, animal e a produção de óleo e etanol (Conab, 2019).

A utilização do milho para confecção de rações animais, como para porco e frango, é uma realidade em todo mundo, podendo chegar a uma porcentagem maior que 70% na composição das rações. A grande aplicabilidade dessa Poaceae na área de nutrição animal, dá-se devido à grande concentração de óleo e amido presentes no grão, que é uma ótima fonte de energia (Cruz et al., 2011).

O consumo desta *commodity* vem sendo crescente no decorrer dos anos. Em 2019 a utilização do milho como fonte de alimentação animal cresceu 8,7% mundialmente (70,2%), isso se deve pelo alto consumo de proteína animal em todo o mundo Conab (op. Cit.).

Além de sua grande aplicabilidade na produção de insumos para animais domésticos, o milho vem se destacando pelo uso na produção de biocombustível. O etanol (produzido a partir do milho) traz algumas vantagens em comparação aos combustíveis fósseis, como a menor emissão de gases nocivos na atmosfera, é fabricado a partir de substâncias renováveis e seus subprodutos podem ser utilizados na alimentação de bovinos (Salla et al, 2010).

Os Estados Unidos possuem o título de maior consumidor deste grão, seguido pela China, União Europeia e Brasil, que juntos são responsáveis por 65,15% da demanda global. A produção brasileira de milhona primeira safra de 2022/2023 alcançou 26,46 milhões de toneladas, sendo 5,7% superior ao do ano passado (Conab, 2023).

É evidente a necessidade de adotar novas medidas de manejo para alcançar grandes produtividades (Coelho, 2020), mas o uso incorreto, e excessivo de algumas atividades agrícolas podem ser prejudiciais ao ambiente. Com a finalidade de aumento da produtividade, os defensivos agrícolas utilizados de forma incorreta e excessiva podem gerar sérios problemas ao solo, como a diminuição da fertilidade através do

acúmulo dessas substâncias químicas no solo, acidez, e até mesmo tornar aquele ambiente de difícil cultivo, fazendo com que as plantas apresentem sinais de toxicidade, como clorose, necrose e até a morte do vegetal (Sun et al., 2018).

A agricultura sustentável, surgiu como um auspicioso modelo de agricultura, que tem como objetivo, diminuir os impactos negativos que podem ser causados ao homem e ao meio ambiente. Prioriza métodos de manejo ecologicamente corretos, como a utilização de cogeração de energia, adubação verde, compostagem, controle biológico (utilização de macrorganismos como insetos, e de microrganismos, como fungos e bactérias) e a utilização de microrganismos promotores de crescimento de plantas (Vieira et al., 2019).

Estudos mostram a capacidade dos pesticidas afetarem a fertilidade do solo através da diminuição de íons metálicos, causando um efeito quelante, razão que pode estar diretamente ligada à diminuição desses íons em solos ao redor de todo o mundo (Kaur et al., 2017). Os microrganismos têm papel indispensável para um solo de qualidade e um bom desenvolvimento do vegetal, atuando principalmente na decomposição de matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes. A associação do manejo sustentável e do convencional pode ser uma via promissora para trazer melhoras a agricultura brasileira (Cunho, 2017). Dentre as medidas do manejo sustentável, se destacam-se os microrganismos. Estes são aliados importantes das plantas, auxiliando no seu desenvolvimento morfológico, promovendo manutenção da fertilidade do solo por meio da ciclagem de nutrientes induzindo sua disponibilidade, fortalecendo a estrutura do solo, podendo também realizar a biorremediação de alguns poluentes (Andrade et al., 2021).

Pesquisas demonstram que a aplicação de microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCP), isoladamente ou como consórcio de cepas compatíveis, estimula significativamente a promoção do crescimento e o rendimento das plantas (Kumar et al., 2017; Meena et al., 2015). O fungo *Trichoderma harzianum* tem uma vasta aplicabilidade, sendo um ótimo decompositor de matéria orgânica, assim como atua no controle biológico, por ter a capacidade de produzir metabólitos secundários (glucanase e a quinase) podendo degradar a parede celular de alguns fungos fitopatogênicos, tornando-o eficiente no controle de doenças agrícolas (Bettiol et al., 2019).

Outro fator conhecido do gênero *Trichoderma*, está relacionado a sua capacidade de estimular a produção de hormônios de crescimento da planta, assim como o aumento da capacidade de tolerar estresses abióticos (temperatura, umidade e pH) (Fernandes, 2021), além de competir por espaço e nutrientes com os patógenos e induzir a resistência natural da planta (Lu et al., 2020).

Os ácidos gerados pelos fungos do gênero *Trichoderma* podem auxiliar na solubilização de alguns micronutrientes minerais (magnésio, ferro e manganês) e fosfatos. Ainda são capazes de disponibilizar os nutrientes para as plantas de uma forma mais assimilável, devido a sua participação na decomposição da matéria orgânica (Bettiol et al., 2019). Além do *T. harzianum*, outro microrganismo que vem se destacando é a bactéria *Bacillus subtilis*, podendo ser encontrada na água ou no solo. Essa espécie além de sua capacidade antibiótica, se destaca-se pela produção de ácido indolacético, ácido abscísico, giberelinas e citocininas, que são fitormônios ligados ao desenvolvimento vegetal (Araujo e Hungria 1999; Araujo et al., 2010). Fator primordial para o desempenho dos microrganismos é a fertilidade do solo, que está diretamente associado ao crescimento e desenvolvimento de microrganismos benéficos e essenciais para a agricultura (Sanomiya e Nahas, 2003).

A utilização da técnica de rochagem vem sendo difundida em todo território brasileiro. As perspectivas da utilização vêm crescendo juntamente com as pesquisas, que comprovam que o uso do pó de rocha através da incorporação no solo disponibiliza macro e micronutrientes essenciais aos vegetais, proporcionando aumento de área foliar e comprimento radicular (Brungnera, 2012).

Dessa forma, se faz necessário para o desenvolvimento sustentável dos sistemas de produção agrícola, novos estudos e métodos de manejo com a utilização de bioinsumos, possibilitando ao agricultor o uso de novas técnicas que proporcionam aumento na produtividade, gerando impacto ambiental cada vez menor.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Milho (*Zea mays* L.)

2.1.1 Cultura do Milho

O milho é uma cultura vastamente utilizada e produzida em todo o mundo, tendo o Brasil como o terceiro maior produtor mundial dessa cultura (Conab, 2019). Segundo o boletim publicado pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab, 2022) no dia 11 de agosto de 2022, para a safra 2021/2022 foi prevista uma produção de 114,7 milhões de toneladas de milho apenas no Brasil, com aumento superior a 30% quando comparada à safra anterior, isso se dá a alta demanda do cereal, e suas muitas utilizações.

Dentre as suas principais finalidades para utilização da cultura do milho, pode-se citar o seu incremento na formulação de rações animais, devido aos antioxidantes presentes no grão, além de alto teor em fibras, ácidos graxos, vitamina A, vitaminas B1 e B5, e de ferro, potássio e cálcio (Sousa, 2020), que são essenciais para um bom desenvolvimento animal. Um estudo realizado por Felix et al., (2009) relatam sobre a importância das vitaminas do complexo B no desenvolvimento de aves de corte, além de frisar que matrizes que são suplementadas com essas vitaminas, têm descendentes com maior ganho de peso. Horwat et al., (2019) dissertam sobre a importância das vitaminas (B1 e B2) e minerais (cálcio, potássio e ferro) para o bem-estar dos suínos, além de atrelá-las ao bom desempenho zootécnico.

Por ser um grão muito rico em vitaminas, minerais e carboidratos o milho é vastamente utilizado na alimentação humana, podendo ser consumido in natura ou presente em alguns derivados (Embrapa, 2006). O óleo de milho é um grande aliado da saúde humana, devido ao teor de ácido linoleico, esteróis, ácidos fenólicos e flavonoides, propriedades que podem auxiliar na disposição e vitalidade do ser humano (Zhao e Chen, 2022).

Além de sua utilização na alimentação humana e animal, a produção de biocombustível utilizando milho vem sendo cada vez mais explorada. Isso ocorre devido à grande busca pela substituição do petróleo (fonte finita) por um produto de uma fonte renovável (Duarte et al., 2022). Dentro do mercado de biocombustíveis as

culturas do milho e da cana-de-açúcar são responsáveis por mais de 80% do mercado mundial, no qual o Brasil e os Estados Unidos da América são os maiores produtores, juntos representam 90% do mercado (Bartoletto e Alcardi, 2015; SILVA et al., 2020). A utilização do milho como fonte para produção de biocombustíveis vem se destacando devido seu alto rendimento em comparação com a cana-de-açúcar, pois com a mesma quantidade de matéria prima, o milho produz mais de quatro vezes do que a cana produz, se mostrando-se assim uma fonte promissora (Cannaval, 2021).

A partir do grande valor mundial da cultura do milho, faz-se necessário a realização de um manejo adequado para atingir grandes produtividades, a fim de suprir a necessidade global desta commodity. Com o avanço da pesquisa e tecnologia, o desenvolvimento de novos métodos de manejo chega com a proposta de alcançar uma maior produção diminuindo o impacto ambiental quando se compara aos métodos já estabelecidos, trazendo então alternativas promissoras ao produtor rural.

2.1.2 Manejo e Cuidados

O milho é uma gramínea pertencente à família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribu Maydea do gênero *Zea*, espécie *Zea mays* L., sendo uma cultura que se originou nas américas. O milho é uma planta angiosperma com altura que pode ultrapassar os 2 metros dependendo da variedade. Sua raiz é fasciculada, e o caule é de uma estrutura ereta, com nóse entrenós, que normalmente não apresenta ramificações. Além de auxiliar na sustentação da planta, o caule do milho realiza também a reserva de sacarose. As folhas são longas e estreitas, com as laterais serrilhadas, e o formato da espiga é cilíndrico com suas sementes (cariopse) atreladas ao fruto (Mendes, 1934; Barros e Calado, 2014; Silva et al., 2021).

No Brasil são realizadas duas épocas de semeadura para o milho, sendo elas 1ª e 2ª Safras. Isso ocorre pois no período da primeira safra os produtores rurais brasileiros optam por fazer o cultivo de soja, e após o fim do ciclo dessa leguminosa, para realização da rotação de cultura, entram com o milho safrinha (2ª Safra). O início da semeadura da 1ª safra ocorre na primavera com o início das chuvas, e se encerra na colheita podendo acontecer entre o verão e o outono, dependendo da época que

foi realizada a semeadura. Em contrapartida a 2ª Safra inicia-se a semeadura no verão, e a colheita no outono (Duarte et al., 2011). Ambas as safras são importantes para produção brasileira de milho, segundo Camargo et al. 2022, do Instituto de Economia Agrícola – IEA, só no estado de São Paulo, a safrinha 2021/2022 foi responsável por 2.190 mil toneladas da produção nacional de milho naquele ano.

Os cuidados com o milho se iniciam antes mesmo da implementação da cultura em campo, na correção e preparo do solo, adubação e no tratamento de sementes. Após a escolha da área de plantio, realizar a correção do solo é fundamental para a cultura. A partir dos resultados da análise química do solo, são determinados quais, e a quantidade de corretivos que ali serão aplicados. O calcário é o insumo que mais se utiliza para corrigir o solo, esse produto tem a finalidade de diminuir a acidez (Shaaban et al., 2020) auxiliando em um maior aproveitamento de nutrientes e, consequentemente oferecendo um habitat melhor para o desenvolvimento vegetativo (Bakaiyanget al., 2021; Baratto et al., 2021).

O propósito do preparo do solo é proporcionar e/ou facilitar para a planta as condições para um bom desenvolvimento em sua fase inicial. Para o milho esse preparo pode ser realizado de duas formas, a primeira é o preparo convencional, onde é realizada a aração e gradagem da área para facilitar a semeadura, e a segunda o sistema de plantio direto, sem o revolvimento, que evita a exposição a erosão, ficando a critério do agricultor o melhor método para a sua área (Manfre, et al., 2019).

A adubação está relacionada ao desempenho e a nutrição das plantas, fatores importantes para alcançar boa produtividade. No milho não é diferente, o vegetal necessita desses nutrientes tanto para o desenvolvimento vegetativo, quanto para o enchimento do grão, no caso do milho podemos frisar a importância do nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), elementos que estão inteiramente ligados à produção de biomassa, enchimento do grão, desenvolvimento da parte aérea e radicular, na respiração e fotossíntese (Simão et al., 2018; Santos et al., 2021). Além dos macronutrientes citados, outros como cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) são indispensáveis para planta, assim como os micronutrientes zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), boro (B), cloro (Cl), cobre (Cu) e molibdênio (Mo) (Fanquin, 2005). Segundo Coelho e França (1993) e Ferreira (2012), deficiência nutricional pode afetar

a planta de milho de muitas maneiras, dentre elas pode-se citar:

- Deficiência de fósforo (P): Manchas nas bordas das folhas em um vermelho intenso;
- Deficiência potássio (K): Secamento nas bordas da folha semelhante a queimaduras;
- Deficiência de nitrogênio (N): Clorose que se inicia na ponta da folha e progride para o centro;
- Deficiência de magnésio (Mg): Clorose internerval;
- Deficiência de Enxofre (S): Plantas menores, encarquiamento e necrose;
- Deficiência de Ferro (Fe): Clorose seguida de necrose em toda folha;
- Deficiência de Zinco (Zn): Escurecimento interneval seguido de clorose, do ápice a base.

Os prejuízos causados pelo déficit nutricional de plantas podem causar perdas expressivas na lavoura e o fato dos nutrientes não estarem disponíveis no solo torna alguns microrganismos aptos a auxiliar a planta no aproveitamento dos nutrientes, sendo essa técnica muito utilizada atualmente (Pedrosa et al., 2015).

A aplicação de produtos químicos se inicia logo na semente, onde são utilizados fungicidas e inseticidas para proteger a planta dos ataques iniciais das pragas e das doenças. Após a cultura ser semeada em campo, é inevitável a realização de aplicações de produtos químicos para um controle efetivo das pragas e das doenças. Um estudo realizado pela Embrapa (2006), mostra que a doença *Cercospora zea-maydis* pode comprometer até 80% da produção de milho. Em um outro estudo Nortox (2018), relata que a antiga praga secundária e agora primária *Dalbulus maidis* por ser o vetor do vírus *Maize rayado fino vírus*, pode causar prejuízos superiores a 25% na produção.

Devido à grande importância mundial da cultura do milho, faz-se necessário a utilização de outros métodos que possam incrementar o controle das pragas e doenças, como por exemplo o controle biológico. O intuito desse tipo de controle é utilizar os inimigos naturais das pragas e doenças (que podem ser insetos e microrganismos) como um aliado da agricultura sustentável (Parra, 2019). Um exemplo da eficiência do controle biológico é a utilização do fungo *Metarhizium anisopliae* no controle da cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*), que foi semelhante

ao dos inseticidas contendo tiametoxame lambdacialotrina (Ribeiro, 2018).

A aplicação de microrganismo na agricultura atual vem se mostrando recorrente, isso se deve à grande eficiência de fungos e bactérias que podem atuar em muitas vertentes, como por exemplo no controle biológico (Rahmal et al., 2018), formação do solo (Silva et al., 2021), biorremediação (Minarri et al., 2020) e na fixação biológica de nitrogênio (Fukami et al., 2018). A alta diversidade microbiana no solo pode auxiliar a cultura do milho a atingir grandes produtividades (Oliveira et al., 2016), trazendo assim uma alta rentabilidade ao produtor, fazendo uso de uma agricultura mais sustentável.

2.2 *Trichoderma harzianum*

Na última década, a utilização de produtos biológicos cresceu rapidamente. Isto se deve porque o consumidor está cada vez mais interessado na forma de cultivo dos alimentos que serão postos à mesa. Segundo o Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – IPEIA (2020), as áreas com cultivo orgânico no Brasil tiveram um acréscimo de 204.737 mil hectares quando comparadas aos anos de 2007 e 2017, e a venda desses produtos no mesmo ano (2017), ficou em torno de 0,78 bilhões de euros, colocando o Brasil como 16º maior consumidor.

A utilização dos produtos biológicos traz para o agricultor uma série de benefícios, dentre eles podem-se citar, a melhoria na disponibilidade de nutrientes no solo, controle biológico, promoção do crescimento vegetal, tolerância da planta a estresses abióticos, biorremediação, decomposição de matéria orgânica e controle da compactação do solo (Bartolin et al., 2019; Blanco et al., 2022; Bai et al., 2022; Kumar e Dwivedi., 2019). Os responsáveis por esses benefícios são fungos e bactérias que vivem no solo e que já estão sendo utilizados em grande escala em todo mundo. Dentre os fungos, o gênero *Trichoderma* é o mais utilizado, tendo destaque para o *Trichoderma harzianum*, que representa 66% dos biofungicidas à base do gênero *Trichoderma* no Brasil (Bettiol et al, 2019).

O *Trichoderma harzianum* é um fungo da divisão dos Ascomycota, ordem Hypocreales e família Hypocreaceae. Sua fase sexuada é conhecida pela formação de corpos de frutificação do tipo peritécio, formados em estromas geralmente na

coloração verde. Nos peritécios são formados ascos contendo ascósporos bicelulares, que se fragmentam em esporos esverdeados. Na fase assexuada, são formados, a partir do micélio vegetativo, conidióforos, onde são produzidos os típicos conídios unicelulares (Abreu e Pefnning, 2019).

2.2.1 Promotor do Crescimento de Plantas

A capacidade de promover o crescimento de plantas pelo fungo *T. harzianum* está inteiramente ligada ao estímulo na produção de fitormônios e a disponibilidade de nutrientes como fosfato de rocha, ferro, cobre, manganês e zinco, além de auxiliar a planta no uso de alguns macronutrientes como o nitrogênio. Liu et al. (2022), relataram que a utilização do *Trichoderma harzianum* em *Blumea chinensis*, planta medicinal, desencadeou o aumento da produtividade e auxiliou no desenvolvimento vegetativo. Liu et al. (2022), ainda notou um aumento nos teores de $\text{NH}_4^+ -\text{N}$, $\text{NO}_3^- -\text{N}$, K e P disponíveis, além do acréscimo de sacarase e catalase na rizosfera.

A solubilização de nutriente é um processo que pode acontecer através da mineralização (por uma atividade enzimática), ou pela produção de ácidos orgânicos e inorgânicos, que desestabilizam os nutrientes os tornando-os disponíveis para a solução do solo. Kuçuk et al. (2008), relataram a competência do *T. harzianum* na solubilização MnO_2 e Zinco metálico em meio líquido. Ali et al. (2022), notaram que nas amostras de solo rizosférico, onde havia a utilização de *T. harzianum* juntamente com superfosfato simples (SSP), tinham o maior teor de P, Zn e Cu, enquanto quando foi utilizado *T. harzianum* junto com fosfato de rocha, houve aumentos nos teores de Fe, ambos os tratamentos tiveram maiores teores nutricionais do que a testemunha sem a utilização do fungo.

Quando utilizado em plantas de *Cannabis sativa*, o fungo *T. harzianum* promoveu um maior desenvolvimento do sistema radicular, e também promoveu a maior emissão de CO_2 no solo, composto este essencial para realização da fotossíntese. O autor ainda relata maiores valores para altura de planta, peso de matéria seca e maior inflorescência após a utilização do fungo (Kakabouki et al., 2021). Bader et al. (2020), relataram que o *T. harzianum* em comparação com outras espécies de *Trichoderma*, produziu uma maior quantidade de IAA ($21 \mu\text{g/mL}^{-1}$),

hormônio principal da classe das auxinas, que está diretamente ligado ao controle fisiológico dos vegetais. Além disso a utilização do *T. harzianum* auxiliou no desenvolvimento das plantas de tomate.

Mahmoodian et al. (2022) verificaram a estabilidade da quitinase (Chit42-ChBD) e a sua habilidade no controle biológico de *Rhizoctonia*, onde o *T. harzianum* inibiu o desenvolvimento do patógeno em 53.83%, aumentou a absorção de nutrientes no solo e favoreceu o crescimento das plantas de feijão. Em uma pesquisa publicada por Brandão et al. (2019), foi confirmada que a utilização de *T. harzianum* gerou aumento de 25% no IAF (índice de área foliar) em comparação com as testemunhas. A utilização do *T. harzianum* no pré-tratamento na cultura do tomate, aumentou a síntese de clorofila e a absorção de N, P e K. Os autores pontuam que a utilização do fungo diminui os efeitos do estresse abiótico e aumentou o acúmulo de flavonoides, açúcares, antocianinas e proteínas solúveis.

O uso de bioinsumos para aumentar a produtividade de commodities vem sendo uma estratégia eficaz. Steffen et al. (2021), utilizaram *T. harzianum* no tratamento de sementes, para o incremento da produtividade de plantas de milho. Com a utilização do fungo alcançaram-se maiores valores para comprimento de espiga, diâmetro de espiga, grãos por linha, peso total de espiga e peso total dos grãos, além do tratamento com o *Trichoderma harzianum* ter produzido 31,56 sacos/hectare a mais que a testemunha, provando a eficiência do microrganismo.

2.3 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis é uma bactéria gram-positiva, do Filo Firmicutes, Ordem Bacillales e Família Bacillaceae. Esse microrganismo é vastamente conhecido desde seu descobrimento em 1835, sendo utilizado para produção de enzimas extracelulares, vacinação e alimentação animal, além do seu uso na agricultura como agente de controle biológico e rizobactéria promotora do crescimento de plantas (Kovacs, 2019.; Alves et al., 2018).

Rizobactérias são as bactérias que vivem na rizosfera, ambiente no solo que recebe influência das raízes das plantas. Essa área é onde o sistema radicular se desenvolve, absorve água, nutrientes e minerais, além de ser a região de contato das

raízes com microrganismos benéficos. A utilização das rizobactérias promotoras do desenvolvimento vegetal, tem como benefício a produção de enzimas e o estímulo da produção de fitormônios. que aumentam o desenvolvimento da planta, solubilizam nutrientes e induz a resistência da planta contra fatores abióticos, e como no caso do *Bacillus subtilis* age também no controle biológico e na fixação biológica de nitrogênio (Amaral et al., 2017).

2.3.1 Fixação Biológica de Nitrogênio (N)

A fixação biológica de nitrogênio é um processo que ocorre entre vegetais e bactérias. O nitrogênio é um macronutriente muitas vezes indispensável para as plantas, fundamental ao metabolismo vegetal, participando da biossíntese de proteínas e clorofila, sendo necessário em grandes quantidades. O N_2 está disponível em mais de 70% da composição atmosférica, porém neste formato, não é assimilável para esses organismos. Para sua disponibilidade, é necessário que ocorra a uma quebra da ligação entre os dois átomos de nitrogênio. As bactérias fixadoras de nitrogênio, através de um processo enzimático, utilizando a enzima nitrogenase, conseguem disponibilizar o nutriente para as plantas. Em alguns casos as bactérias penetram no interior do sistema radicular das plantas desenvolvendo alguns nódulos, estruturas estas que possuem um conjunto de microrganismos que realizam a redução do N_2 para NH_3 e NO_3^- , sendo assim assimilado pelo vegetal. (Hungria et al., 2001; Fagan, et al., 2007).

Em um estudo realizado por Sun et al. (2020), quando utilizaram *B. subtilis* com 50% da dose recomendado de ureia, foi reduzida a perda de nitrogênio em mais de 50% quando comparado ao tratamento que utilizou 100% de ureia. Ainda foi observado um aumento de 5% na produção de milho e foi obtido um acréscimo de 11% na eficiência do uso de N. Ng et al. (2022) relatam que após o uso da bactéria *B. subtilis* em solo esterilizado, houve um aumento superior de 30% nos teores de nitrogênio e amônio disponíveis no solo em relação a testemunha, além do aumento superior a 70% da atividade da urease no solo, auxiliando a mineralização do nitrogênio indisponível.

2.3.2 Promoção no Crescimento de Plantas

A produção de metabolitos secundários, enzimas, fitormônios e a disponibilidade de nutrientes proporcionada pelo *B. subtilis*, atuam diretamente no desenvolvimento da raiz e parte aérea do vegetal, sendo muito utilizadas para alcançar grandes produtividades. Adesemoyew et al. (2008) notaram que o uso de *B. Subtilis* aumentou em 50% a germinação nas plântulas de tomate, 40% nas de espinafre e 80% nas de quiabo, foi relatado um crescimento superior a 30% em todas as culturas tratadas com *B. subtilis*. Em um outro estudo publicado, Lim e Kim (2009) relatam sobre a capacidade da bactéria em solubilizar fósforo, além da produção do fitormônios estimulador do crescimento vegetal, auxina, que foi responsável por aumentos que chegaram até 20% no tamanho das folhas, caules e sistema radicular em plantas de tomate e pimentão.

Mohamed et al. (2018) dissertam sobre a eficiência do *B. subtilis* na solubilização de fosfato, tendo o índice de solubilização chegando a 3, sendo considerado um bom índice. O autor relata a resistência do microrganismo contra os ingredientes ativos de alguns pesticidas (captan, tiofanato de metila e oxamyl) e a salinidade do solo, o que pode favorecer o estabelecimento da bactéria em campo.

Ahmad et al. (2020), isolaram 40 bactérias da rizosfera de plantas de algodão, no qual destes 40 isolados, a bactéria *B. subtilis* foi a mais eficiente em solubilizar fosfato insolúvel, também auxiliou no desenvolvimento de mudas de algodoeiro e teve seu potencial aumentado quando utilizada junto com outra bactéria (*Bacillus* sp.). Um outro estudo publicado por Swain et al. (2012) fez a utilização do *B. subtilis* juntamente com o esterco de vaca, que alcançou uma solubilização de fosfato 25% e de fosfatase ácida 12% maior do que ao utilizar apenas a bactéria, ainda foram relatados uma maior altura, comprimento e biomassa nos tratamentos com o microrganismo.

A coinoculação é uma técnica em que consiste na adição de dois ou mais microrganismos em uma determinada cultura para ganhos benéficos no estabelecimento e desenvolvimento das plantas em campo, Ahmed et al. (2019) utilizaram a técnica e realizaram a coinoculação de *Bacillus subtilis* e *Bacillus aryabhattai* em plantas de feijão e milho para solubilização de fosfato e promover o desenvolvimento das plantas. Fora o aumento nos nódulos nas plantas de feijão, a

utilização das bactérias aumentou os teores N 140 e 18%, P 90 e 43%, e K em 71 e 44% respectivamente para a cultura do feijão e milho. Gupta et al. (2021), observaram que o consórcio entre os microrganismos *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis* na cultura do arroz, aumentou o teor de nitrogênio, fósforo e potássio disponível sobre a testemunha sem microrganismo. O mesmo tratamento com ambas as bactérias obteve as maiores absorções para N, P e K, aumento na atividade desidrogenase e carbono da biomassa microbiana.

2.4 Pó de Rocha

O pó de rocha é um produto mineral que passa pelo processo de extração, britagem, moagem e peneiramento, por meio de processos físicos, atuando sobre a sua granulometria, para que possa ser aplicado no campo. Além desses processos é necessário que seja comprovada a sua eficiência agronômica, coma a função de remineralizar os solos, pela adição de novas fases minerais e, em fornecer macro e micronutrientes que são absorvidos pelas plantas para o seu processo de desenvolvimento vegetativo (Veloso, 2020). Diferentemente do pó de rocha, os fertilizantes convencionais passam por um tratamento químico, que pode envolver processos com ácidos fortes, como ácido sulfúrico, tratamento com calor, ou a adição de alguns subprodutos como derivados do petróleo, que os tornam prontamente disponíveis para absorção no solo. Porém, devido a este tratamento, tem-se o aumento da lixiviação e consequentemente da contaminação de rios, lagos e lençóis freáticos, e se usado de forma errônea, pode mudar drasticamente a composição química do solo tendo como consequência a salinização (Alves, 2006).

A utilização do pó de rocha surgiu da necessidade de tornar a agricultura mais sustentável e de apresentar para o agricultor um insumo natural, que pode ser utilizado em seu manejo. A rochagem é uma técnica de aplicação do pó de rocha, que pode diminuir gargalos ambientais, e consequentemente promover melhores condições química, física e biológica do solo. O pó de rocha tem uma liberação gradual de seus nutrientes (geralmente: silício, cálcio, magnésio e potássio), o que favorece a oferta desses elementos na solução dos solos e na nutrição das plantas. Alovisi et al. (2021) relataram que a utilização do pó de rocha de basalto, quando utilizado a 12 Mg

ha⁻¹ favoreceu a redução da acidez ativa do solo, elevando o pH em 0,5 em 90 dias, fator esse que depende da composição da rocha; o autor ainda menciona o ganho significativos nos teores de fósforo e potássio aos 30 dias, e de magnésio e cálcio aos 90.

Theodoro et al. (2006) Avaliaram a implementação da técnica de rochagem na agricultura familiar, em que após a utilização do pó de rocha (origem vulcânica) foi constatado o aumento no teor de fósforo, potássio e cálcio + magnésio. Outro fato observado foi que após cinco anos da aplicação da técnica de rochagem, algumas parcelas de tratamentos permaneceram com valores de P e K superiores aos que foram coletados antes do uso do pó de rocha e, os autores ainda relatam melhor performance em culturas semi-perenes e perenes, com produtividade igual ou até 40% superior as que utilizaram adubação química convencional.

Wolschick et al. 2016, avaliaram a germinação de plantas de *Cedrela fissilis* com o uso de pó de rocha em casa de vegetação, os tratamentos que continham 40% e 30% de pó de rocha, foram os que obtiveram as maiores médias com 73% e 74% respectivamente. A aplicação do pó de rocha na cultura da soja também se mostrou efetiva, tanto para o parâmetro de altura de planta, quanto para as análises químicas (nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio) com resultados equivalentes quando comparado o uso do pó de rocha mica xisto com a adubação MAP e KCl (Amaral et al., 2020).

Writzl et al. (2019) após realizar análises agronômicas, comprovaram que a utilização do pó de rocha puro, ou misturado com cama de frango como adubo em plantas de milho, teve resultados equivalentes ao tratamento químico convencional para os parâmetros de desenvolvimento morfológico da planta e produção grãos, resultados estes positivos, uma vez que a utilização do pó de rocha é economicamente mais viável e sustentável quando comparada com os adubos químicos.

Junior et al. (2020) avaliaram os componentes químicos da parte aérea da cana-de-açúcar com diferentes doses de pó de rocha, onde os tratamentos que continham o produto mineral, tiveram resultados equivalentes ou superiores em relação à testemunha para os parâmetros de açúcar redutor do caldo, fibra, açúcar redutor da cana e açúcar total recuperável. O autor ainda afirma que a utilização do produto é viável para o uso na cultura da cana de açúcar e que o mesmo pode ser

utilizado a nível industrial. A aplicação do uso do pó de rocha no milho também mostrou resultados superiores ou sem diferença estatística quando comparada com a testemunha para população de plantas, produtividade em quilogramas por hectare e peso de mil grãos (Junior et al., 2020).

A aplicação do pó de rocha de forma independente no feijoeiro obteve uma germinação de 98%, 4% maior que na adubação mineral, os resultados das avaliações de altura de planta, diâmetro de colmo, número de vagens por plantas e massa de cem grãos, tiveram médias próximas a da fertilização mineral, e o autor relata que as diferentes formas de adubação não interferem no desenvolvimento, produtividade e na qualidade da cultura do feijão (Duarte et al., 2021).

Silveira et al. (2021) fizeram a utilização de pó de rocha a lanço na cultura da cana-de-açúcar e notaram que a utilização do pó de rocha a 5 a 10 toneladas ha⁻¹, com a redução de 20% da adubação convencional, proporcionou ganhos para os parâmetros de índice de área foliar, altura de planta e diâmetro de colmo. Apesar de sua alta eficiência, a performance do pó de rocha pode ser alavancada se utilizado juntamente com alguns microrganismos. Os microrganismos que vivem na rizosfera são alimentados pelos exsudatos liberados pelas plantas, como açúcares, aminoácidos e vitaminas, consequentemente esses organismos liberam ácidos orgânicos e inorgânicos, que realizam a solubilização e/ou mineralização dos nutrientes que estão no solo, porém não estão disponíveis para a planta, os tornando assimiláveis (Ribeiro et al., 2020), tornando a utilização em conjunto dos produtos biológicos, com o pó de rocha, promissora.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização

O experimento foi conduzido na Faculdade de Ciências Agrária e Veterinárias – FCAV/UNESP, em Jaboticabal – São Paulo, em laboratório e casa de vegetação do Departamento de Ciências da Produção Agrícola, com a durabilidade de 100 dias, sendo 60 dias utilizados para a incubação do pó de rocha, e 40 dias de experimento em casa de vegetação que foram contabilizados após início da germinação.

3.2 Microrganismos

A bactéria *B. subtilis* utilizada no presente estudo faz parte do acervo do Laboratório de Microbiologia Agrícola, localizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV-UNESP, Campus de Jaboticabal, em Jaboticabal-SP. Esta bactéria foi isolada de uma planta de milho e identificada por sequenciamento. A sequência depositada no GenBank está sob o número MZ133755. O fungo *T. harzianum* pertence à empresa Alfa Agrotec e foi gentilmente fornecido para o estudo. A bactéria *B. subtilis* foi cultivada em caldo de nutrientes por 48 horas a 28° C. A bactéria foi aplicada uma única vez em uma quantidade de 50mL por vaso, 7 dias após a emergência, na concentração de 1×10^8 unidades formadoras de colônias (UFC) por mL diretamente no solo. O *T. harzianum* foi cultivado em caldo de batata dextrose por 7 dias a 28° C. O fungo foi inoculado na quantidade de 50mL por vaso, uma vez, na concentração de 1×10^8 UFC por mL, diretamente no solo. Nos tratamentos do terceiro experimento que recebeu a mistura dos dois microrganismos, cada vaso recebeu 50mL de cada microrganismo no mesmo volume e concentração mencionados acima.

3.3 Condução e Delineamento Experimental

As sementes de milho RM 3700 - Monsanto foram adquiridas na Coplana – Cooperativa Agroindustrial, em Jaboticabal-SP.

O preparo do pó de rocha foi realizado por meio da incubação do solo (neossolo quartzarênico - RQ), por 60 dias, com a dose de 5 toneladas por hectare, em vasos com volume de 5,0 dm³. Após o período de incubação, o solo foi revolvido uma vez ao dia por 7 dias, sendo coletadas duas amostras de solo (amostra 1: solo sem qualquer tratamento e amostra 2: solo tratado com pó de rocha) e realizou-se as análises químicas do solo, segundo a metodologia de Raij et al., (2001). Em uma segunda etapa, foi realizada a adubação básica, conforme Fageria (2000), com aplicações de 80 mg dm⁻³ de nitrogênio na forma de ureia, 200 mg dm⁻³ de fósforo na forma de superfosfato simples e 180 mg dm⁻³ de potássio na forma de cloreto de potássio. Além desses nutrientes, foram acrescentados os micronutrientes: 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) e 3,0 mg dm⁻³ de ferro (sulfato de ferro) conforme recomendações de Malavolta (1980) para ensaios em vaso.

Na sequência, foi realizada a semeadura das plantas de milho, deixando-se duas plantas por vaso e, posteriormente realizando o desbaste mantendo apenas uma, após 15 dias de emergência.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com delineamento inteiramente casualizado (DIC), com temperatura ambiente e irrigação complementar até 70% da capacidade de campo. As unidades experimentais foram constituídas pelo uso de pó de rocha e da aplicação dos microrganismos *T. harzianum* e de *B. subtilis* no sulco, em cada vaso, dos tratamentos propostos. Foram realizadas 4 repetições por tratamento, com total de 60 vasos. A pesquisa foi dividida em três experimentos, e as unidades experimentais foram distribuídas da seguinte forma:

Experimento 1:

T1 = Controle - adubação convencional;

T2 = *T. harzianum* + adubação convencional;

T3 = Pó de rocha + adubação convencional;

T4 = *T. harzianum* + pó de rocha + adubação convencional;

T5 = *T. harzianum* + pó de rocha + 50% adubação convencional.

Experimento 2:

T1 = Controle - adubação convencional;

T2 = *B. subtilis* + adubação convencional;

T3 = Pó de rocha + adubação convencional;

T4 = *B. subtilis* + pó de rocha + adubação convencional;

T5 = *B. subtilis* + pó de rocha + 50% adubação convencional.

Experimento 3:

T1 = Controle - adubação convencional;

T2 = *T. harzianum* + *B. subtilis* + adubação convencional;

T3 = Pó de rocha + adubação convencional;

T4 = *T. harzianum* + *B. subtilis* + pó de rocha + adubação convencional;

T5 = *T. harzianum* + *B. subtilis* + pó de rocha + 50% adubação convencional.

3.4 Caracterização Pó de Rocha

3.4.1 Difração de Raios X

As medidas de difração de raios X (DRX) foram realizadas em um difratômetro Bruker D8 Discover. Utilizou-se radiação monocromática de um tubo com anodo de cobre acoplado a um monocromador Johansson para K 1 operando em 40kV e 40mA, configuração BraggBrentano -2, detector unidimensional Lynxeye, 2 de 5° a 100° e passo de 0,02°. As amostras foram mantidas em rotação de 15 rpm. A composição e proporção modal foi obtida pelo método de Rietveld, utilizando o software TOPAS Versão 4.2, em que se baseia no ajuste de uma composição calculada ao difratograma experimental.

3.4.2 Fluorescência de Raios X

As medidas de fluorescência de raios X (FRX) foram realizadas em um espectrômetro WDS Bruker S8 Tiger, equipado com tubo de Rh. Para análises dos elementos maiores, a calibração foi realizada com o pacote GeoQuant M da Bruker composto por padrões de rochas e minerais naturais. Os valores obtidos para os óxidos maiores estão representados em porcentagem (%) de massa, em base úmida. Para análise dos elementos menores, os resultados foram obtidos, por pacote de curvas GeoQuant T da Bruker. Os elementos menores estão representados em partes por milhão (ppm).

3.5 Ensaio de Compatibilidade dos Microrganismos com o Pó de Rocha

A avaliação de compatibilidade dos microrganismos *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* com o pó de rocha seguiu a metodologia adaptada de Almeida et al,

2003. O fungo *T. harzianum* foi cultivado em placas contendo 20 mL de meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar, na concentração de 39g L⁻¹ de água deionizada) e mantido em estufa BOD no período de 5 dias, a 26°C, com o fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. A bactéria *B. subtilis* foi semeada em placas de petri contendo 20 mL de Ágar nutriente (28g L⁻¹), no período de 24h, a 28°C.

Utilizou-se o pó de rocha na concentração de 5 t ha⁻¹ para incorporação em meio de cultura, posteriormente a autoclavagem, quando o meio de cultura chegou a 45°C. Após a solidificação, inoculou-se 0,10mL do fungo *T. harzianum* no centro da placa, na concentração de 1 x 10⁸. Para bactéria *B. subtilis* foram utilizados 0,10mL na concentração de 1 x 10⁸, sendo após a inoculação, realizada a homogeneização da solução bacteriana por toda a placa. As repetições foram feitas em triplicata, com o delineamento experimental inteiramente casualizado. As testemunhas utilizadas continham os microrganismos cultivados em meio de cultura com a ausência do pó de rocha.

Em seguida o microrganismo *T. harzianum* foi colocado um período de 7 dias em câmara BOD, a 26°C, com o fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Após o período de 7 dias, foi realizada a avaliação do comprimento das colônias, onde calculou-se o diâmetro. Em seguida efetuou-se a contagem dos conídios, batendo em liquidificador cada placa de cada tratamento em 500 mL de água deionizada. Em seguida, a contagem de conídios foi efetuada em câmara de Neubauer em um microscópio ótico, utilizando a diluição seriada de 10⁻³. A bactéria *B. subtilis* foi mantida em BOD no período de 24h, a 28°C, e posteriormente realizou-se a contagem de UFC (Unidade Formadora de Colônia).

Após a obtenção dos resultados, as médias do comprimento de colônias, número de conídios e UFC, foram realizadas e comparadas pelo Scott Knott, a 0,05% de significância, com o uso do software SISVAR (Ferreira, 2011).

3.6 Análises de Solo

O solo utilizado nas unidades experimentais foi classificado como Neossolo Quartzarênico (RQ). Coletou-se 500g de amostra de solo, em uma primeira etapa para

classificação geral da fertilidade, e após a incubação com pó de rocha, para determinação da nova fertilidade obtida, em cada unidade experimental (vasos). Os resultados de fertilidade foram analisados de acordo com Scott Knott 5% (Raij et al., 2001).

3.7 Análises de Desenvolvimento Vegetativo

3.7.1 Diâmetro de Colmo e Altura de Planta

Foram realizadas avaliações do diâmetro de colmo (DC) e altura de plantas (AP) com 40 dias após a emergência. A medição do DC foi realizada seguindo a metodologia de Junior et al., 2016 com auxílio de um paquímetro digital, com unidade de medida expressa em centímetros (cm). Para a análise da AP, utilizou-se uma fita métrica flexível que mediu a planta do colmo até bainha da última folha (em cm).

3.7.2 Índice de Área Foliar

As medidas de comprimento (C) e maior largura (L) foram efetuadas em folhas das plantas de cada repetição, sendo a área de cada folha estimada pela equação $IAFE = 0,75 \times C \times L$. Foi determinando o fator área foliar em todas as repetições, e foram realizadas as amostragens aos 40 dias após a instalação de cada experimento (Pereira, 1987).

3.7.3 Matéria Seca de Parte Área e Raiz

As plantas foram retiradas dos vasos, lavadas com água e separadas em parte aérea e raiz. Após a separação, as partes das plantas foram colocadas em sacos de papel e postas para secar em estufa regulada a 70 °C por quatro dias, para obtenção de peso constante das amostras. Após esse período, as amostras foram retiradas. Uma vez na temperatura ambiente, com auxílio de uma balança precisão de 0,001g, pesaram-se as mesmas e seu resultado expresso em miligramas (mg) por

planta.

3.7.4 Análises Estatística: Desenvolvimento Vegetativo

Os dados obtidos por meio dos testes realizadas, foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott Knott, a 5% de significância, com o uso do software SISVAR (Ferreira, 2011).

3.8 Análises Químicas da Biomassa Vegetal

A análise química em tecidos vegetais é uma ferramenta crucial para realização da avaliação do estado nutricional da planta e, por meio dela, pode-se verificar a presença de nutrientes que a planta absorveu do solo e se a absorção desses elementos está sendo eficaz. Nesta etapa do experimento o preparo das amostras foi realizado de acordo com a metodologia de Boaretto et al. (2009). Enquanto todas as outras análises (nitrogênio método de Kjeldahl, digestão nitro-perclórica e digestão dos elementos fósforo, potássio, enxofre, cálcio, magnésio, cobre, ferro, zinco, manganês e boro) foram realizadas seguindo a metodologia de Miyazawa et al., 1999.

3.8.1 Preparo das Amostras

Após o final do período de 40 dias da emergência, foi retirada a parte aérea das plantas, a partir da região do colo da planta e, após, as raízes foram retiradas dos vasos por meio do processo de lavagem, com ambas as partes lavadas (com água destilada e com uma solução diluída de 0,1% de detergente) e levadas ao laboratório. Em seguida o material vegetal foi seco em estufa com temperatura controlada de 70°C, durante 4 dias ou até obtenção do peso constante da massa seca.

Na descontaminação das folhas secas foi realizada seguindo o seguinte cronograma:

- Lavagem com detergente Neutro 0,1% por 1 minuto;

- Lavagem com água destilada por 2 minutos;
- Lavagem com solução HCl concentração 3% em volume por 1 minuto;
- Lavagem com água destilada por 2 minutos.

A descontaminação foi realizada para limpar qualquer poeira e/ou resíduo de produto químico e fertilizante que possa ser encontrado no material vegetal. Em seguida o material foi colocado novamente em estufa com temperatura controlada de 70°C até a obtenção do peso constante, onde posteriormente foi realizada a moagem em moinho tipo Willey e peneirados em peneira de 20 mesh. As amostras foram cuidadosamente identificadas e armazenadas em sacos de papel kraft.

3.8.2 Nitrogênio (N) (Método de Kjeldahl)

Pesou-se em um tubo digestor 0,1000g da amostra, em seguida pesaram-se 0,95 da mistura de sais (165g K_2SO_4 + 15g $CuSO_4$), adicionaram-se 3mL de ácido sulfúrico e 1mL de peróxido de nitrogênio, foi realizada a agitação e posteriormente colocado em bloco digestor em uma temperatura inicial de 100°C e deixou por 20 minutos e foi aumentando a temperatura gradativamente de 50° C a 50° C até atingir a temperatura de 350° C. As amostras ficaram no bloco até a digestão (coloração verde claro), após o resfriamento iniciou-se a destilação.

Todo o extrato digerido de H_2SO_4 foi transferido para o destilador Kjeldahl, conectouse um erlenmeyer contendo 25mL de H_3BO_3 2% na ponta do destilador e foi adicionado 10mL de NaOH 40% no digerido. A torneira de vapor foi aberta e a destilação foi efetuada até completar 50mL de solução, onde foi observado que a coloração da solução de H_3BO_3 passa de vinho para verde. A titulação com a solução de HCl 0,01 M foi realizada, e o ponto final da titulação é dado quando volta a coloração inicial de cor vinho. O volume gasto da titulação foi multiplicado por 1,4 para fazer a transformação de unidade para ($g\ Kg^{-1}$). A metodologia utilizada segue Miyazawa et al. (1999).

3.8.4 Digestão Nitro-Perclórica (P, K, S, Ca e Mg)

Pesou-se 0,5000g da amostra seca e moída, transferiu-se para os tubos de

digestão com de capacidade de 50mL, adicionaram-se 3 pérolas de vidro por tudo, onde acrescentaram-se 5mL de HNO_3 65% m v⁻¹. O material deixado em temperatura ambiente por 1 hora e meia, em seguida os tubos foram colocados no bloco de digestão e os mesmos foram aquecidos até chegar na temperatura de 80° C por 20 minutos, depois a temperatura aumentou-se até chegar em 160°C.

Os tubos foram observados cuidadosamente e retirados do bloco, caso o material tenha subido pelas paredes do tubo de digestão. Quando a maior parte do HNO_3 evaporou e a solução estava clara, ou seja, (o gás castanho da parede do tubo acabar), os tubos foram retirados do bloco para resfriar, em seguida foi acrescentado 1,3mL de HClO_4 concentrado.

Os tubos foram colocados novamente no bloco digestor e a temperatura foi aumentada para 210° C. A digestão ficou completa quando a solução ficou incolor e uma fumaça densa e branca de $\text{HClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ apareceu acima do material dissolvido dentro do tubo. Depois os tubos foram novamente resfriados, e as amostras foram diluídas com H_2O para 25mL no vidro snap-cape.

3.8.5 Digestão Dos Elementos na Amostra Diluída a Partir da Digestão Nitro-Perclórica

3.8.5.1 Fósforo (P)

Foi pipetado 1mL da amostra, e transferido para um tubo de ensaio, onde adicionaram-se 4mL de água, e 2mL do reativo (mistura de partes iguais de molibdato de Amônio 5% e Vanadato 0,25%), agitou-se o tubo, em seguida ficou em repouso por 15 minutos para ler no Espectrofotômetro UV- VIS a 420nm. O aparelho foi zerado com 5mL de H_2SO_4 10N e 2 mL do reativo.

Curva padrão P:

Solução estoque de fósforo (80ppm de P): em um balão volumétrico de 1000mL contendo cerca de 300mL de água destilada e 10,0mL de H_2SO_4 10N adicionou-se 0,3509g de KH_2PO_4 seco (fosfato monobásico em estufa por 2 horas a 70-80°C e resfriado em dessecador). Agitou-se o conteúdo do balão volumétrico e completou o volume com H_2O destilada.

Soluções padrão de fósforo: em balões volumétricos de 100mL foi adicionado

com auxílio de uma bureta: 0,0 - 5,0 - 10,0 - 15,0 - 20,0 - 25,0 mL da solução estoque de P (80ppm), 4,0mL de H₂SO₄ 10N, completou-se o volume com água destilada e realizou a homogeneização. Essa solução continha respectivamente 0,0 - 4,0 - 8,0 - 12,0 - 16,0 - 20,0 ppm de P.

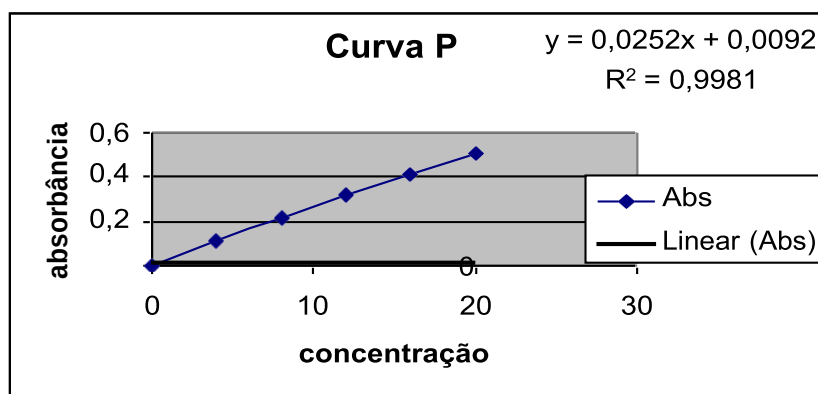
Obtenção da curva padrão (Tabela 1 e Figura 1): pipetaram-se 5mL dos padrões para um tubo de ensaio, e adicionaram-se 2mL do reagente colorido e em seguida homogeneizou-se a solução e a mesma deixada em repouso por 5 minutos. Após este período realizou-se a leitura em colorímetro utilizando filtro azul, ou seja, $\lambda = 420\text{nm}$.

Tabela 01. Curva padrão do elemento fósforo (P).

Concentração de P	Absorbância
0	0
4	0,111
8	0,218
12	0,32
16	0,416
20	0,502

Fonte: Miyazawa et al., 1999.

Figura 01. Gráfico de curva padrão do elemento fósforo (P).



Fonte: Miyazawa et al., 1999.

3.8.5.2 Potássio (K)

Utilizou-se 1mL do extrato, e o transferiu para um tubo de ensaio onde adicionaram-se 9mL de água e em seguida agitou-se. O fotômetro de chama foi zerado com a solução-padrão com o zero mgK L⁻¹ e ajustado para 80 com solução padrão com 40mg L⁻¹, e a leitura efetuada (Tabela 2). Cálculo para K: K g kg⁻¹ = mg L⁻¹ x 0,5.

Tabela 02. Curva padrão do elemento potássio (K).

mg K L ⁻¹	Solução padrão 100ppm K	HNO ₃ 1M
0	0	20
5	1	19
10	2	18
20	4	16
40	8	12

Fonte: Miyazawa et al., 1999.

3.8.5.3 Enxofre (S)

Pipetaram-se 5mL do extrato e transferiu-se para um tubo de ensaio onde acrescentaram-se 0,5mL semente ácida e 0,25g de cloreto de bário (BaCl₂.2H₂O) peneirado. Esperou-se um minuto, em seguida agitou-se até a dissolução dos cristais. A leitura da absorbância foi realizada após 8 minutos da dissolução dos cristais em 420nm. O aparelho foi zerado com a 5mL de ácido perclórico 70%, 0,5mL de semente ácida e 0,25g de cloreto de bário.

Curva padrão S (Tabela 3 e Figura 2):

Cristais de BaCl₂.2H₂O: Os cristais de BaCl₂.2H₂O foi peneirado em peneiras de 20 e 60 mesh e os cristais que ficarem retidos na peneira 60 foram utilizados.

Solução estoque de 1000ppm de S: dissolveram-se 5,4374g de K₂SO₄ p.a., secos em estufa a 105°C por 2 horas, em água, completando o volume a 1000mL.

Solução-padrão contendo 100ppm de S: em um balão volumétrico de 100mL, e transferiram-se 10mL da solução estoque de 1000ppm de S, completando o volume com a solução de ácido perclórico a 1,0 %.

Soluções padrões diluídas: Foram pipetado 0 – 2- 4- 6- 8- 10- 12- 16 mL da solução de 100ppm de S em balões volumétricos de 100mL, completando os volumes com a solução de ácido perclórico 1,0%. Essas soluções continham 0

– 2 – 4 – 6 – 8 – 10 – 12 – 16ppm de S.

Colocaram-se 10mL das soluções padrões diluídas: 0 – 2 – 4 – 6 – 8 – 10 – 12 – 16ppm de S em tubos de ensaios identificados por A - B - C - D - E - F - G

- H, com capacidade para 25mL. Acrescentou-se 1mL de semente- ácida, e em seguida adicionaram-se 0,5g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ peneirado, e após 1 minuto agitou-se até a dissolução dos cristais. A absorbância foi lida após 8 minutos da dissolução dos cristais em espectrofotometria a 420nm. Zerou-se o aparelho com o ponto zero da curva- padrão.

Obtenção da curva padrão: A construção da curva padrão foi realizada, plotando os valores de absorbância contra as concentrações das soluções – padrões diluídos, multiplicadas por 0,25 e em seguida divididas por 5 (0 - 0,5 –

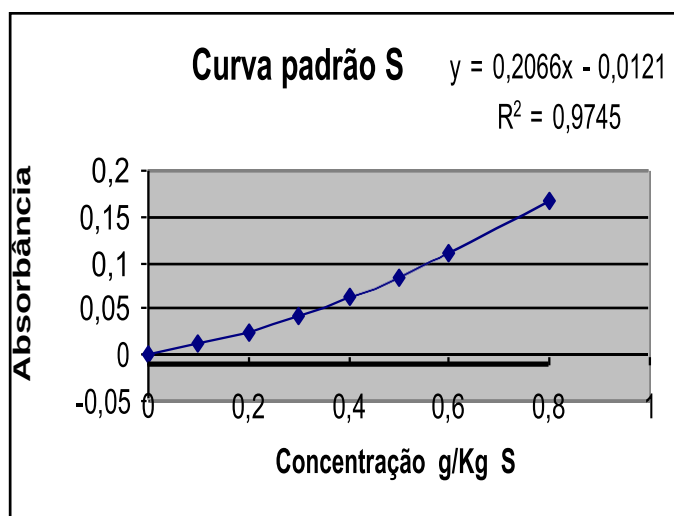
1 - 1,5 – 2 - 2,5 – 3 – 4g/Kg) de S, na matéria seca. Os resultados das amostras foram multiplicados por 0,05.

Tabela 03. Curva padrão do elemento enxofre (S).

Concentração S	Absorbância
0,1	0
0,2	0,012
0,3	0,025
0,4	0,043
0,5	0,062
0,6	0,083
0,7	0,11
0,8	0,167

Fonte: Miyazawa et al., 1999.

Figura 02. Gráfico de curva padrão do elemento enxofre (S).



Fonte: Miyazawa et al., 1999.

3.8.5.4 Cálcio (Ca)

Foi pipetado 1mL do extrato diluído (25mL) para um snap-cape e adicionaram-se 19mL de água, depois transferiu-se para um tubo de ensaio 1mL da amostra diluída (20mL) e adicionaram-se 9mL de lantânio e, em seguida homogeneizou-se para leitura na espectrofotometria de absorção atômica.

Curva padrão Ca (Tabela 4):

Solução padrão 100ppm de Ca: pipetaram-se 10mL da solução padrão de 1000ppm e transferiu-se para um balão de 100mL, em seguida completou-se com H₂O. Da solução padrão de 100ppm formou-se a curva.

Tabela 04. Curva padrão do elemento cálcio (Ca), volume para 50mL.

Conc. Mg L ⁻¹	Vol. 100ppm Ca
5ppm	2,5mL
10ppm	5mL
20ppm	10mL
50ppm	25mL
75ppm	35,5mL

Fonte: Miyazawa et al., 1999.

Desta curva foi pipetado 1mL e adicionaram-se 9mL de lantânio para leitura na espectrofotometria de absorção atômica.

3.8.5.5 Magnésio (Mg)

Para realização da análise, foi pipetado 1mL do extrato diluído (25mL) para um snap-cape e adicionaram-se 9 mL de água, depois transferiram-se para um tubo de ensaio 1mL da amostra diluída (20mL) e adicionam-se 9mL de lantânio e agitou-se, em seguida realizou-se a leitura de espectrofotometria de absorção atômica.

Curva padrão Mg (Tabela 5):

Solução padrão 100ppm de Mg: Pipetaram-se 10mL da solução padrão de 1000ppm e transferiu-se para um balão de 100mL, em seguida completou-se com água.

Solução padrão de 5ppm de Mg: Colocou-se 5mL da solução padrão de 100ppm e transferiu para um balão de 100mL, em seguida foi completado com água

Tabela 05. Curva padrão do elemento magnésio (Mg), volume para 50mL.

Conc. Mg L ⁻¹	Volume 5ppm Mg	
0 pm	Lantânio	A
0,2ppm	2mL	B
0,4ppm	4mL	C
0,6ppm	6mL	D
0,8ppm	8mL	E

Fonte: Miyazawa et al., 1999.

4 RESULTADOS

4.1 Características Pó de Rocha

O pó de rocha foi adquirido diretamente de seu fabricante, a COPLAN – CONSTRUTORA PLANALTO LTDA., localizada no município de Embaúba, Estado de São Paulo. O pó de rocha é um resíduo da extração de rocha basáltica, e tem

propriedades (Tabela 06 e 07) que melhoram as características físicas, químicas e microbiológicas dos solos, e consequentemente, auxiliam as plantas no seu desenvolvimento. Por ter baixas concentrações de elementos potencialmente tóxicos (Tabela 08), o pó de rocha não interfere no crescimento e desenvolvimento do vegetal.

Tabela 06. Caracterização química dos elementos maiores da amostra de pó de rocha de basalto Coplan, Embaúba - SP. UNESP, 2023.

Elemento	Quantidade (%)
SiO ₂	49,7
Al ₂ O ₃	12,6
Fe ₂ O ₃	14,1
CaO	10
MgO	5,3
Na ₂ O	2,32
K ₂ O	1,05
MnO	0,2
P ₂ O ₅	0,21
TiO ₂	1,93
SO ₃	<LQ
PF*	1,85

*PF: Perda ao fogo; **<LQ: Abaixo do Limite Quantificável.

Tabela 07. Caracterização mineralógica da amostra de pó de rocha de basalto Coplan, Embaúba - SP. UNESP, 2023.

Mineral	Quantidade (%)
Fe-Augita	31,72
Ulvoespinélio	<LQ
Ilmenita	0,60
Hematita	1,27

Magnetita	2,18
Apatita	1,26
Ortoclásio	2,05
Goethita	<LQ
Clorita	0,62
Quartzo	2,04
Labradorita	24,73
Andesina	19,74
Mineral de baixa cristalinidade	12,80

Augita - $\text{Ca}_{1,83}\text{Na}_{0,22}\text{Mg}_{3,41}\text{Fe}^{2+}_{1,26}\text{Al}_{0,23}\text{Fe}^{3+}_{0,05}\text{Mn}^{2+}_{0,02}\text{Ti}_{0,02}\text{Si}_{7,79}\text{Al}_{0,21}\text{O}_{22}(\text{OH})_2$;
 Ilmenita - FeTiO_3 ; Ortoclásio - KAlSi_3O_8 ; Labradorita - $(\text{Ca},\text{Na})(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_8$; Andesina - $(\text{Na},\text{Ca})(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_8$.

*PF: Perda ao fogo; **<LQ: Abaixo do Limite Quantificável.

Tabela 08. Caracterização química dos elementos potencialmente tóxicos da amostra de pó de rocha de basalto Coplan, Embaúba - SP. UNESP, 2023.

Elemento	mg kg ⁻¹
Arsênio (As)	< 1,0
Cádmio (Cd)	0,03
Chumbo (Pb)	1,6
Mercúrio (Hg)	< 0,05

4.2 Análises Químicas do Solo

Todos os nutrientes são essenciais para a planta, mesmo que alguns sejam necessários em menor quantidade, o vegetal necessita deles para conseguir ter um bom desenvolvimento e atingir o seu estágio de maturação. Os macronutrientes são os que a plantas precisam em maiores quantidades, e por isso precisam estar mais disponíveis. Posteriormente à incubação do pó de rocha basáltico, na análise química do solo foi constatado aumentos dos macronutrientes fósforo, potássio, cálcio e enxofre, podendo tomar como exemplo os 5,5 mg dm⁻³ a mais de potássio e os 2,4 mmolc dm⁻³ de cálcio que foram notados na segunda análise (Tabela 09).

Para o milho, a disponibilidade de fósforo e cálcio são de extrema importância, principalmente pelo fato de o fósforo estar inteiramente ligado no processo de fotossíntese, e o cálcio atuando na estrutura da planta, compondo a parede celular. O enxofre e o potássio também obtiveram acréscimos de $1,9 \text{ mg dm}^{-3}$ e $0,6 \text{ mmolc dm}^{-3}$ respectivamente, a mais do que no solo sem o pó de rocha. Em contrapartida foi observada uma queda não significativa de $0,3 \text{ mmolc dm}^{-3}$ de magnésio na segunda análise realizada.

Para o micronutriente boro, não houve diferença entre os valores, enquanto para o ferro, observou-se um aumento de $4,8 \text{ mg dm}^{-3}$, acréscimo significativo para o vegetal, devido à sua importância como catalisador nas reações de oxidação e redução na respiração e fotossíntese. Não houve diferença para cobre, manganês e zinco comparando ambos os valores (Tabela 09).

Tabela 09. Atributos químicos e físicos do solo antes (primeira linha) e após (segunda linha) do processo de incubação com pó de rocha basáltica (PRB). UNESP, 2023.

pH	M.O	P	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Ca	Mg	Na	K	Al
CaCl ²	g dm ³	-----mg dm ⁻³ -----							----- mmolc dm ⁻³ -----				
-													
Atributos químicos e físicos do solo antes do processo de incubação com pó de rocha basáltica													
4,8a	1,8a	3,3b	2,2b	0,1a	0,3a	3,4b	1,4a	0,3a	6,6b	4,3a	0	1,1b	0
Atributos químicos e físicos do solo após do processo de incubação com pó de rocha basáltica													
4,8 a	2,3 a	9,4 a	4,3 a	0,2a	0,3a	8,2a	1,2a	0,1a	9,0a	4,0a	0	1,7a	0
Erro padrão	0.04	0.1	0.7	0.03	0.007	3.2	1.5	0.001	0.5	0.7	0	0.9	0
CV %	1.4	2.6	8.5	1,2	2,5	2.1	1.8	0,009	2.6	3.5	0	1.7	0

CV% - coeficiente de variação - As médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entresi pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

4.3 Análises de Compatibilidade

A partir da análise de compatibilidade realizada (Tabela 10), pode-se observar que não houve a redução do comprimento de colônia para o microrganismo

Trichoderma harzianum cultivado em meio de cultura com pó de rocha, quando comparado ao cultivo do fungo em meio sem a adição de pó (testemunha). Na Figura 03 fica visível que o *T. harzianum* se desenvolve em toda a placa de petri em ambos os tratamentos, provando assim que não houve diferença significativa entre os tratamentos para o parâmetro de comprimento de colônia. Os resultados para contagem de conídios também não se mostraram estatisticamente diferente (apesar da queda do tratamento *T. harzianum* + Pó de rocha em comparação com a testemunha).

Tabela 10. Análise de compatibilidade do Pó de Rocha com os microrganismos *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis*. UNESP, 2023.

Microrganismos	Comprimento de colônia (cm ²)	Nº Conídios	UFC
<i>Trichoderma harzianum</i> (testemunha)	50.24a	1.2x10 ⁻⁷ a	-
<i>Trichoderma harzianum</i> + Pó de Rocha	50.24a	1x10 ⁻⁷ a	-
<i>Bacillus subtilis</i> (Testemunha)	-	-	1.3x10 ⁸ a
<i>Bacillus subtilis</i> + Pó de Rocha	-	-	1.1x10 ⁸ a
<i>p</i>	0.9 ^{NS}	0.07 ^{NS}	0.07 ^{NS}
F	0.0	12	12
CV (%)	3.49	6.43	5.89

CV% - coeficiente de variação - As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

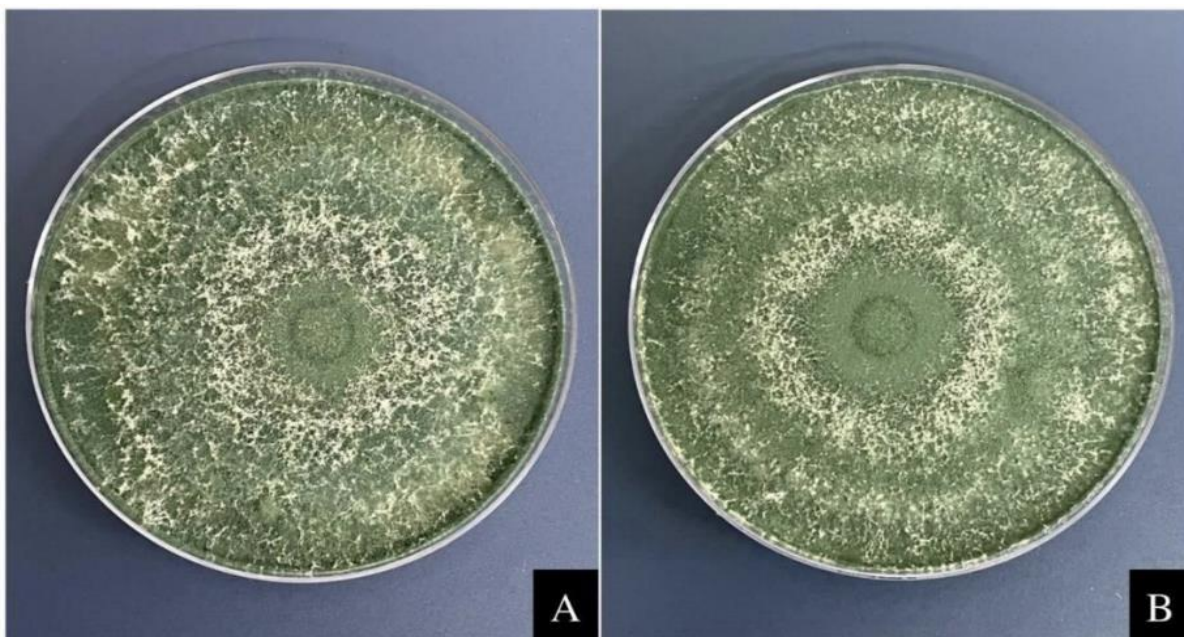


Figura 3. Compatibilidade do microrganismo *Trichoderma harzianum* com pó de rocha após 5 dias em câmara BOD, a 26°C, com o fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. (A) Microrganismo cultivado em meio de cultura com pó de rocha; e (B) Microrganismo cultivado em meio de cultura sem a presença de pó de rocha (testemunha).

Em relação a contagem da Unidade Formadora de Colônias (UFC) de *Bacillus subtilis* realizada em meio ágar sem (testemunha), e com a adição de pó de rocha (Tabela 10, notou-se que a diferença entre os tratamentos não foi significativa, o que indica a compatibilidade da utilização do microrganismo como técnica de rochagem.

4.4 Análises Agronômicas e Químicas

4.4.1 Experimento 1: *Trichoderma harzianum* + Pó de Rocha

A partir das análises realizadas (Tabela 11), observa-se que, no experimento 1, não houve diferença significativa quanto ao parâmetro diâmetro do colmo e todos os tratamentos apresentaram médias semelhantes. Para a altura das plantas, é possível separar os tratamentos em dois grupos, o primeiro composto pelos tratamentos que apresentaram as maiores médias T3, T5 e T4, com 151, 136 e 122 centímetros, respectivamente, e que continham o uso do fungo *T. harzianum* em sua composição, que se diferenciou do segundo grupo (tratamentos 1 e 2), onde foram

observadas as menores médias (98 e 97cm), para a altura das plantas.

Em relação aos resultados do índice de área foliar (Tabela 11), o tratamento 1 apresentou a menor média avaliada com 175 cm², seguido dos tratamentos 2 e 4. Em contraste, os tratamentos 3 e 5 apresentaram médias superiores, o que os diferenciou significativamente de todos os outros. A adição de pó de rocha no tratamento 5 apresentou resultados semelhantes ao tratamento 3, utilizando 50% menos do que a adubação recomendada para o milho.

Tabela 11. Análises agronômicas realizadas em plantas de milho (40 DAE) com associação de *Trichoderma harzianum*, pó de rocha e adubação convencional (experimento 1). UNESP, 2023.

Tratamentos	Diâmetro de colmo (cm)	Altura da Planta (cm)	Índice de Área foliar (cm ²)	Matéria seca de parte Aérea (g)	Matéria seca de raiz (g)
1) Adubação (100%)	0,6 a	98 b	175 c	4,0 c	1,9 b
2) Adub. + Pó de Rocha	0,9 a	97 b	211 b	5,1 b	1,4 c
3) Adub. (100%) + <i>T. harzianum</i>	0,9 a	151a	312 a	6,5 a	1,9 b
4) Pó de Rocha + Adub. (100%) + <i>T. harzianum</i>	0,9 a	122 a	222 b	6.2 a	1,8 b
5) Pó de Rocha + Adub. (50%) + <i>T. harzianum</i>	1.1 a	136 a	305 a	6.2 a	2.3 a
Erro padrão	1.6	4.8	7.3	8.7	7.5
CV (%)	19.5	11.3	4.3	8.36	9.42

CV% - coeficiente de variação - As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Para a matéria seca da parte aérea (Tabela 11), todos os tratamentos com o microrganismo *T. harzianum* (3, 4 e 5) obtiveram médias superiores ao controle. O uso de adubação em conjunto com pó de rocha (tratamento 2) também expressou valor maior do que quando utilizou-se apenas a adubação convencional (tratamento 1). Em relação à matéria seca de raiz, os tratamentos 1, 3 e 4 não se diferiram entre

si, mas atingiram médias superior ao 2, tratamento este que diferiu de todos os tratamentos testados por apresentar a menor média para essa avaliação. O tratamento 5 obteve o maior resultado, diferindo estatisticamente dos demais.

Na Tabela 12, é possível observar a quantidade de macronutrientes encontrada a partir da análise química das folhas de milho. O nitrogênio, elemento crucial para a fotossíntese, foi encontrado em maiores quantidades nos tratamentos 4, 3 e 2, que continham 100% de adubação, com o acompanhamento de pó de rocha e/ou *T. harzianum*, diferente do T1, que utilizou apenas 100% de adubação, e para T5, com 50% da adubação recomendada.

Quanto aos resultados de fósforo e enxofre (Tabela 12), o tratamento 1 diferiu de todos os outros com maior quantidade, embora consistisse apenas em adubação (100%), os demais tratamentos não houve diferença estatística entre si. Em relação ao potássio, o tratamento 2 também se destacou dos demais, apresentando a maior média.

Para o cálcio (Tabela 12), os tratamentos 3 e 4 obtiveram as menores médias, mesmo com 100% de adubação e o uso do microrganismo. No entanto, o tratamento 2 com pó de rocha e 100% de adubação apresentou o melhor resultado entre os tratamentos testados, enquanto os tratamentos 1 e 4 expressaram resultados intermediários. Em relação ao magnésio, não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 12. Análises químicas dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) expressas em g/Kg de matéria seca, realizados em folhas de milho (40 DAE) com associação de *Trichoderma harzianum*, pó de rocha e adubação convencional (experimento1). UNESP, 2023.

Tratamentos	Macronutrientes					
	N	P	K	Ca	Mg	S
1) Adubação (100%)	30 b	3,23 a	26 b	0,55 b	1,49 a	2,26 a
2) Adub. + Pó de Rocha	36 a	1,97 b	30 a	0,79 a	1,53 a	1,23 b
3) Adub. (100%)						
+ <i>T. harzianum</i>	38 a	2,32 b	27 b	0,29 c	1,22 a	1,44 b

4) Pó de Rocha						
+ Adub. (100%)	38 a	1,77 b	25 b	0,23 c	1,45 a	1,39 b
+ <i>T. harzianum</i>						
5) Pó de Rocha						
+ Adub. (50%) +	32 b	1,59 b	25 b	0,48 b	1,76 a	1,13 b
<i>T. harzianum</i>						
Erro padrão	2.6	1.5	4.7	3.6	4.1	3.6
CV (%)	7.67	20.14	4.60	26.05	8.96	10.42

CV% - coeficiente de variação - As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

4.4.2 Experimento 2: *Bacillus subtilis* + Pó de Rocha

O uso da bactéria *B. subtilis* juntamente com pó de rocha e 50% da adubação obteve o maior diâmetro médio do caule, diferindo estatisticamente do 1 tratamento controle (Tabela 13), que obteve os menores resultados para esta avaliação. Os tratamentos 4 e 2 apresentaram médias intermediárias, que foram superiores ao controle e inferiores às do tratamento 5. Em relação à altura da planta, o tratamento 5 obteve o maior resultado entre os tratamentos, seguido pelo tratamento 4, que incluiu a combinação de pó de rocha, adubação e microrganismos. Os tratamentos 1, 2 e 3 apresentaram médias inferiores às citadas anteriormente.

Os tratamentos 3 e 1 obtiveram os menores resultados em relação ao índice de área foliar, sendo o tratamento 3 o menor, diferindo do tratamento 1 (Tabela 13). Por outro lado, os tratamentos em que foram aplicados pó de rocha, adubação e *B. subtilis* (5 e 4) apresentaram as maiores médias entre todos os tratamentos testados. O tratamento 2 obteve média superior à dos tratamentos 1 e 3.

Tabela 13. Análises agrônomicas realizadas em plantas de milho (40 DAE) com associação de *Bacillus subtilis*, pó de rocha e adubação convencional (experimento 2). UNESP, 2023.

Tratamentos	Diâmetro de colmo (cm)	Altura da Planta (cm)	Índice de Área foliar (cm ²)	Matéria seca de parte Aérea (g)	Matéria seca de raiz (g)
-------------	------------------------	-----------------------	--	---------------------------------	--------------------------

1) Adubação (100%)	0,60 c	98 c	175 c	4,03 c	1,99 a
2) Adub. + Pó de Rocha	0,93 b	97 c	211 b	5,14 b	1,43 b
3) Adub. (100%) + <i>B.</i> <i>subtilis</i>	0,56 c	95 c	133 d	3,90 c	1,27 b
4) Pó de Rocha + Adub. (100%) + <i>B. subtilis</i>	1,0 b	143 a	296 a	6,44 a	1,11 b
5) Pó de Rocha + Adub. (50%) + <i>B. subtilis</i>	1.2 a	124 b	295 a	6,49 a	1,86 a
Erro padrão	1.4	2.3	5.6	1.5	1.2
CV (%)	13.09	5.86	4.31	9.11	11.37

CV% - coeficiente de variação - As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Os maiores valores de matéria seca da parte aérea em plantas de milho foram observados nos tratamentos 4 e 5, respectivamente (Tabela 13), seguidos do tratamento 2. Estes diferiram dos tratamentos 1 e 3, que apresentaram as menores médias para esta avaliação. Em relação à matéria radicular, os tratamentos 1 e 5 diferiram dos demais (2, 3 e 4), alcançando os maiores resultados.

Para a análise química do nitrogênio foliar do milho (Tabela 14), observou-se que os tratamentos 2, 3, 4 e 5 diferiram apenas do controle (100% adubação convencional), que atingiu a menor média. Esse resultado foi semelhante quando se observou a análise de potássio, onde todos os tratamentos obtiveram médias superiores às do tratamento 1.

Em relação à análise do fósforo (Tabela 14), os tratamentos 1, 5 e 3 alcançaram as maiores médias, o que os diferenciou significativamente dos tratamentos 2 e 4, que apresentaram menos de 2 g/kg do macronutriente. Analisando os resultados para o enxofre, os tratamentos 1 e 3 alcançaram as médias mais elevadas, diferindo de 2, 4 e 5, enquanto para as análises de cálcio e magnésio, os resultados não diferiram estatisticamente.

Tabela 14. Análises químicas dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) expressas em g/Kg de matéria seca, realizados em folhas de milho (40 DAE) com associação de *Bacillus subtilis*, pó de rocha e adubação convencional (experimento 2). UNESP, 2023.

Tratamentos	Macronutrientes					
	N	P	K	Ca	Mg	S
1) Adubação (100%)	30 b	3,23 a	26 b	0,55 a	1,49 a	2,26 a
2) Adub. + Pó de Rocha	36 a	1,97 b	30 a	0,79 a	1,53 a	1,23 b
3) Adub. (100%) + <i>B. subtilis</i>	37 a	3,08 a	32 a	0,56 a	1,77 a	1,74 a
4) Pó de Rocha + Adub. (100%) + <i>B. subtilis</i>	38 a	1,70 b	30 a	0,74 a	1,46 a	1,14 b
5) Pó de Rocha + Adub. (50%) + <i>B. subtilis</i>	36 a	3,12 a	32 a	1,01 a	1,56 a	1,43 b
Erro padrão	3.6	0,2	2.5	0. 06	0,24	0. 02
CV (%)	5.10	15.21	4.98	20.01	12.88	19.98

CV% - coeficiente de variação - As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

4.4.3 Experimento 3: *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + Pó de Rocha

Avaliando o parâmetro altura da planta (Tabela 15), observou-se que os tratamentos que foram compostos por microrganismos, adubação (50%) e pó de rocha (tratamentos 3, 4 e 5) alcançaram resultados superiores aos do tratamento 1, com 100% da adubação recomendada, e 2, que além da adubação também possuía pó de rocha em sua composição. Em relação ao índice de área foliar, todos os tratamentos obtidos médias superiores a 175 cm² (tratamento 1), diferindo estatisticamente do controle, com o tratamento 4 apresentando média de 283 cm²,

distinguindo não apenas do tratamento 1, mas também dos demais.

Tabela 15. Análises agronômicas realizadas em plantas de milho (40 DAE) com associação de *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, pó de rocha e adubação convencional (experimento 1). UNESP, 2023.

Tratamentos	Diâmetro de colmo (cm)	Altura da Planta (cm)	Índice de Área foliar (cm ²)	Matéria Seca de parte Aérea (g)	Matéria seca de raiz (g)
1) Adubação (100%)	0,60 a	98 b	175 c	4,03 b	1,99 a
2) Adub. + Pó de Rocha	0,93 a	97 b	211 b	5,14 a	1,43 a
3) Adub. (100%) + <i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	1.1 a	124 a	208 b	3,14 b	1,13 a
4) Pó de Rocha + Adub. (100%) + <i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	0,96 a	113 a	283 a	5,47 a	1,53 a
5) Pó de Rocha + Adub. (50%) + <i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	0,86 a	128 a	231 b	5,20 a	1,50 a
Erro padrão	1.4	2.5	5.6	1.2	2.4
CV (%)	19.50	5.91	7.60	11.83	20.53

CV% - coeficiente de variação - As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Para a matéria seca aérea (Tabela 15), os tratamentos 2, 4 e 5 apresentaram valores superiores a 5 g, obtendo-se os maiores resultados para esta avaliação. Os tratamentos 1 e 3 apresentaram médias inferiores, diferindo dos demais. Em relação aos parâmetros de matéria seca radicular e diâmetro do caule, os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si.

No experimento três, para o nitrogênio (Tabela 16), pode-se observar que os tratamentos 1 e 5 apresentaram médias menores, diferindo de 2, 3 e 4, tratamentos que excederam 30 g/kg do macronutriente na análise realizada. Em contrapartida,

ao analisar os resultados para o fósforo, nenhum dos tratamentos excedeu o valor e de 3,23 g/kg, valor da média do controle que diferiu dos demais.

A combinação de microrganismos com 100% da adubação recomendada T3 (Tabela 16) atingiu a maior média de cálcio 1,55 g/kg de matéria seca entre os tratamentos avaliados. O tratamento 4, que, além dos microrganismos e 100% da adubação e composto pela presença de pó de rocha, obteve a segunda maior média, com 1,13 g/kg de cálcio, seguido dos tratamentos 2 e 1, que apresentaram 0,55 e 0,79 g/kg do macronutriente, respectivamente. O controle, adubação (100%) atingiu a maior média (2,26 g/kg) para enxofre dos tratamentos avaliados, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos. Para potássio e magnésio, os tratamentos não obtiveram diferença significativa entre si.

Tabela 16. Análises químicas dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) expressas em g/Kg de matéria seca, realizados em folhas de milho (40 DAE) com associação de *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, pó de rocha e adubação convencional (experimento 3). UNESP, 2023.

Tratamentos	Macronutrientes					
	N	P	K	Ca	Mg	S
1) Adubação (100%)	30 b	3,23 a	26 a	0,55 c	1,49 a	2,26 a
2) Adub. + Pó de Rocha	36 a	1,94 b	30 a	0,79 c	1,53 a	1,23 b
3) Adub. (100%) + <i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	36 a	1,91 b	30 a	1,55 a	1,64 a	1,47 b
4) Pó de Rocha + Adub. (100%) + <i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	39 a	1,67 b	28 a	1,13 b	1,63 a	1,22 b
5) Pó de Rocha + Adub. (50%) + <i>T. harzianum</i> + <i>B. subtilis</i>	29 b	1,49 b	30 a	0,13 d	1,72 a	1,09 b
Erro padrão	5.9	1.3	2.5	0.4	2.6	1.5
CV (%)	11.48	18.24	6.53	15.41	13.98	10.43

CV% - coeficiente de variação - As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

5 DISCUSSÃO

5.1 Experimento 1: *Trichoderma harzianum* + Pó de Rocha

Os resultados mostram que a aplicação de pó de rocha em conjunto com o fungo *T. harzianum* promoveu aumento e/ou equiparação em parâmetros importantes relacionados ao crescimento da planta de milho, como área foliar, matéria seca da parte aérea e matéria seca radicular, em comparação com tratamentos que receberam apenas adubação convencional e adubação convencional com a aplicação em pó de rocha. Wagatsuma et al. 2012, também relataram um desenvolvimento superior em plantas de milho quando inoculado *T. harzianum* em comparação à testemunha para o parâmetro de matéria seca de parte aérea. Chagas et al. (2017) notaram que em plantas de milho, soja e feijão houve um melhor desenvolvimento do sistema radicular, e consequentemente um maior peso de matéria seca de raiz. No presente trabalho todos os tratamentos tiveram resultados superiores à testemunha, provando a eficiência do fungo e do pó de rocha, além de ter o resultados compatíveis com os do autor citado anteriormente.

Resende et al. (2004), coletaram os resultados de plantas de milho aos 45 dias com e sem a inoculação do fungo *T. harzianum*. O autor observou que não houve diferença estatística entre os tratamentos com e sem a inoculação do microrganismo em relação à altura de planta, resultados estes encontrados neste trabalho, onde todos os cinco tratamentos tiveram resultados estaticamente iguais para este parâmetro. Resende et al. (2004) ainda relatam um aumento expressivo na matéria seca do sistema radicular nos tratamentos com o fungo, semelhantes aos dessa pesquisa, em que todos os tratamentos com o *T. harzianum* tiveram resultados superiores ao da testemunha.

A fertilização química convencional torna os nutrientes prontamente disponíveis para as plantas e aos microrganismos do solo. Essa pronta disponibilidade de nutrientes promove dois efeitos simultâneos. Uma é a diminuição do pleno desenvolvimento do sistema radicular, uma vez que as raízes não precisam

ir atrás do nutriente para absorvê-lo, e a outra é a diminuição da interação entre a planta e o microrganismo, uma vez que há disponibilidade para ambos e reduzindo a necessidade de ajuda mútua (Meena et al., 2017). Por outro lado, a aplicação de fertilizantes que necessitam de ação mineralizante para disponibilizar nutrientes requer maior esforço e maior desenvolvimento radicular e promove maior interação com microrganismos rizosféricos como estratégia de disponibilidade e aquisição de nutrientes (Ramos et al., 2022).

O fungo *T. harzianum* possui diversas habilidades para promover o crescimento das plantas, como a produção de fitormônios como o ácido indol-acético (IAA) (Saber et al., 2017). O IAA promove maior desenvolvimento radicular, o que aumenta a eficiência da exploração do solo e promove maior absorção de água e nutrientes pelas plantas (Lobo et al., 2022). O uso do microrganismo separado, ou em conjunto com o pó de rocha (tratamentos 3, 4 e 5), promoveram um maior índice de área foliar, Kleifeld e Chet (1992) relatam que em plantas de pimenta, o uso do fungo foi benéfico, tendo resultados superiores para índice de área foliar em comparação com o controle.

O fungo *T. harzianum* também tem a capacidade de produzir enzimas e ácidos orgânicos que mineralizam o fósforo inorgânico presente no solo, promovendo maior absorção de água e nutrientes pelas plantas (Bader et al, 2020). O efeito da mineralização pode ter sido estimulado pela presença de pó de rocha, em contraste com o fertilizante prontamente disponível que diminui essa ação fúngica. As plantas que receberam a aplicação do fungo *T. harzianum*, pó de rocha e apenas 50% da dose de adubação convencional proporcionaram um maior aumento na parte aérea e raízes em comparação com as plantas que receberam 100% da dose de adubação convencional, além de terem tido resultados equivalentes para N, K, Ca e Mg em comparação com a testemunha, mesmo com a redução de 50% da adubação química. Machado et al. (2011) em plantas de aveia preta, relataram em seu estudo que o uso de *T. harzianum*, obteve médias estatisticamente equivalentes para nitrogênio total de parte aérea em comparação com a testemunha que recebeu adubação nitrogenada.

Este resultado mostra que provavelmente seria possível diminuir o resultado da adubação convencional sem prejuízo do crescimento e desenvolvimento da planta de milho quando há uma associação de pó de rocha com a inoculação do fungo *T.*

harzianum Yedidia et al. (2001).

5.2 Experimento 2: *Bacillus subtilis* + Pó de Rocha

A inoculação com a bactéria *B. subtilis* promoveu os maiores valores para os parâmetros altura da planta, índice de área foliar e matéria seca das plantas e raízes nos tratamentos que receberam *B. subtilis*, e pó de rocha com 100 e 50% da dose do fertilizante. Lima et al. 2011 tiveram aumento na altura das plantas de milho quando utilizaram a inoculação de *B. subtilis* e adubação nitrogenada. A utilização do pó de rocha nos tratamentos 4 e 5 auxiliaram a planta a alcançar um maior desenvolvimento, com altura superior aos dos tratamentos 1, 2 e 3, Silveira e Lima (2007), também tiveram um maior desenvolvimento de altura de planta nos tratamentos em que utilizaram pó de rocha junto com a aplicação de esterco. A não pronta disponibilidade dos nutrientes promove uma interação maior da planta com os microrganismos, auxiliando no maior desenvolvimento. Almaghrabi et al. (2014) obtiveram ganho de 27% no tamanho de plantas de milho em comparação com a testemunha quando utilizaram *B. subtilis* em seu tratamento, o peso de matéria seca também foi estatisticamente superior, resultados esses semelhantes ao deste trabalho. Lee et al. (2014), também mencionam o desenvolvimento na altura e índice de área foliar em plantas de pepino e tomate, com o uso do microrganismo, e Jabborova et al. (2021) descrevem o mesmo fenômeno em plantas de gengibre

A bactéria *Bacillus subtilis* promoveu um maior peso de matéria seca de raiz em todos os tratamentos em que foi utilizada, quando comparada à testemunha. Katsenios et al. (2022) obtiveram um maior peso para matéria seca em plantas de milho doce em que realizaram a inoculação do microrganismo. Tahir et al. (2017) relatam o maior peso de matéria seca em plantas de tomate cultivadas em tubos de ensaio com a aplicação de compostos orgânicos voláteis de *B. subtilis*, quando o experimento foi realizado em vasos. Além de um maior peso de matéria seca, foi observado um maior índice de área foliar, resultados esses, semelhantes com os deste trabalho, que além do uso da bactéria, os resultados de índice de área foliar foram impulsionados pelo uso do pó de rocha nos tratamentos 4 e 5. Toscani e Campos (2017) observaram que o uso do pó de rocha na cultura do feijão, alterou as

propriedades do solo que são responsáveis pela fertilidade, tendo participação na promoção da área foliar. Tahir et al. (2017) relata que a produção de compostos orgânicos voláteis produzidos pelo microrganismo têm relação direta com a promoção do crescimento das plantas.

Os resultados obtidos referentes à matéria seca de parte aérea, são semelhantes aos de Araújo (2008), que não teve diferença estatística entre a testemunha, e o que foi inoculado com o microrganismo (tratamentos 1 e 5). Porém a equiparação dos tratamentos 1 e 5 são positivas, uma vez que a redução da adubação química, e a adição do pó de rocha, supriu a necessidade nutricional da planta a ponto de o desenvolvimento ser estatisticamente igual. Junior et al. (2022) ao avaliar diferentes isolados de *B. subtilis* na cultura soja, notou as diferentes quantidades na produção de ácido indol acético, o que justifica os diferentes resultados para matéria seca de parte aérea, onde, quando o autor comparou este parâmetro com a testemunha, obteve resultados equivalentes ou inferiores. Este fato que ocorreu neste trabalho, os maiores resultados de matéria seca de parte aérea foram dos tratamentos 1 (testemunha) e 5 (pó de rocha + adubação 50% + *B. subtilis*), sendo eles equivalente, os demais foram estatisticamente inferior. O autor menciona o poder de solubilização de fosfato dos isolados da bactéria, o que fundamenta a equiparação da testemunha para os níveis de fósforos com os do tratamento 5, apesar da queda em 50% na utilização do fertilizante químico convencional, a bactéria foi capaz de solubilizar o fósforo do pó de rocha, e suprir esse déficit.

Interessantemente, os menores valores para os parâmetros analisados, com exceção da matéria seca radicular, foram encontrados para o tratamento controle que recebeu apenas adubação convencional sem a aplicação de pó de rocha ou inoculação com *B. subtilis*. Os resultados também mostraram que para os parâmetros analisados, com exceção da matéria seca radicular, a associação entre a inoculação de *B. subtilis* e a aplicação de pó de rocha promoveu maiores aumentos em conjunto do que nos tratamentos que receberam cada um separadamente.

Para análise nutricional de nitrogênio e potássio, todos os tratamentos tiveram resultados superiores aos da testemunha, e sem diferença significativa para os parâmetros de cálcio e magnésio. Segundo Mohamed e Gomma (2012), em solos com alta salinidade na cultura do rabanete, ocorreu um acréscimo nos teores de

nitrogênio, potássio cálcio e magnésio no tratamento com *B. subtilis*, o que corrobora com resultados de nitrogênio e potássio obtidos nesse estudo, e divergem para cálcio e magnésio, porém, a igualdade estatística da testemunha e do tratamento 5, demonstra a eficiência na disponibilidade dos nutrientes pela bactéria, e uma possível diminuição da interação do microrganismo com a planta devido à pronta disponibilidade dos nutrientes fornecida pela adubação química (Meena et al., 2017), que são encontradas nos tratamentos 3 e 4. Ahmad et al. 2019 também observaram um aumento no teor nutricional nas plantas de milho e feijão para nitrogênio e potássio.

Kang et al. (2019), ao avaliar o efeito nutricional da utilização de *Bacillus subtilis* em repolho, não obtiveram diferença estatística no teor de magnésio, em comparação com a testemunha sem o uso do microrganismo, resultados estes equivalentes aos encontrados neste trabalho. Em contrapartida para o teor de enxofre, o autor nota um aumento significativo comparando a testemunha como tratamento com *B. subtilis*, resultados esses não observados nesse trabalho, uma vez que a testemunha junto ao tratamento 3 obtiveram as maiores médias para S, diferenciando-se dos demais tratamentos.

5.3 Experimento 3: *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* + Pó de Rocha

No terceiro experimento, no qual foi utilizada a mistura de *B. subtilis* e o fungo *T. harzianum*, não houve diferença entre os valores de diâmetro da planta e matéria seca radicular, mas houve aumento da matéria seca da parte aérea. Em geral, a aplicação de pó de rocha em conjunto com a mistura de *B. subtilis* e *T. harzianum* não apresentou valores mais elevados em comparação com os tratamentos que receberam esses mesmos microrganismos separadamente.

Os microrganismos promotores do crescimento das plantas têm várias habilidades que contribuem para aumentar o crescimento das plantas, e esses microrganismos têm sido usados para esse fim. No entanto, em algumas situações, esses microrganismos podem falhar nesta proposta. Essa falha ocorre principalmente devido à falha desses microrganismos em colonizar a rizosfera e, conseqüentemente,

os tecidos vegetais em expressar esse efeito de crescimento. Nesse sentido, a aplicação de uma mistura de dois microrganismos, *B. subtilis* e *T. harzianum*, como foi feito no presente estudo, aumentaria as chances de sucesso na colonização microbiana e na interação com a planta (Lobo et al., 2022; Mitter et al., 2021). No entanto, essas misturas de microrganismos, como visto no presente estudo, não necessariamente potencializam os efeitos ou as habilidades promotoras de crescimento de cada microrganismo individual.

6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a aplicação do pó de rocha tem seus benefícios melhorados quando aplicados com a bactéria *B. subtilis* e o fungo *T. harzianum* de forma separada. Utilizar microrganismos + pó de rocha + 50% da adubação convencional pode ser uma excelente estratégia para se reduzir a dependência de fertilizantes pois promove incrementos (altura de planta, diâmetro de colmo, IAF, matéria seca de riaz e de parte aérea) na planta do milho na fase inicial. Essa prática pode ser uma excelente estratégia para se reduzir a dependência de fertilizantes químicos.

A aplicação de uma mistura contendo os dois microrganismos *B. subtilis* e *T. harzianum*, não necessariamente potencializa os efeitos ou as habilidades promotoras de crescimento de cada microrganismo como quando utilizados individualmente.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu LM e Pefnning LH (2019) O Gênero *Trichoderma* no Brasil. *In*: Mayer MC, Mazaro SM, Silva JC ***Trichoderma Uso na Agricultura***. EMBRAPA, p. 163 – 179
- Adesemoye AO, Obini M, Ugoji EO (2008) Comparison of plant growth- promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in three vegetables. ***Brazilian Journal of Microbiology*** 39:423-426.
- Ahmad I, Hussain A, Jamil M (2021) Integrated use of phosphate-solubilizing *Bacillus subtilis* strain IA6 and zinc-solubilizing *Bacillus* sp. strain IA16: a promising approach for improving cotton growth. ***Folia Microbiologica*** 66:115-125.

Ahma M, Adil Z, Hussina A, MumtaZ MZ, Nafees M, Ahmad I, Jamil M (2019) Potential of phosphate solubilizing *Bacillus strains* for improving growth and nutrient uptake in mungbean and maize crops. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences** 56:285-289.

Ali S, Khan MJ, Anjun MM, Khan GR, Ali N (2022) *Trichoderma harzianum* Modulates Phosphate and Micronutrient Solubilization in the Rhizosphere. **Gesunde Pflanzen** 74:853–862.

Almaghrabi OA, Abdelmoneim TS, Albishri HM, Moussa TAA (2014) Enhancement of maize growth using some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under laboratory conditions. **Life Sci J** 11:764-772.

Almeida JEM, Batista Filho A, Lamas C, Leite LG, Tram M, Sano HA (2003) Avaliação de compatibilidade de Defensivos Agrícolas na Conservação de Microrganismos Entomopatogênicos no Manejo de Pragas do Cafeeiro. **Arq. Inst. Biol.** 70:79-84.

Alves KCS, Almeida MEM, Correia J, Santos FA, Castro D, Mariuba LAM (2018) *Bacillus subtilis*: uma versátil ferramenta biotecnológica. **Scientia Amazonia** 7:15-23.

Alovisi AMT, Rodrigues RB et al. (2021) Uso do pó de rocha basáltica como fertilizante alternativo na cultura da soja. **Research, Society and Development** 10:1-12.

Amaral MB, Monteiro EC, Barbosa ES, Silva NFP, Castilo GJM (2017) Rizobactéria Promotoras de Crescimento Vegetal: Uma Revisão de Literatura. XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VII Encontro de Iniciação à Docência, **Anais...** São Paulo: Universidade do Vale do Paraíba. P 1 – 4.

Andrade FC, Fernandes F, Junior AO, Rondina ABL, Hungria M, Nogueira MA (2021) Enrichment of organic compost with beneficial microorganisms and yield performance of corn and wheat. **Rev. bras. eng. agríc. ambiente** 25:332-339.

Araujo ASF, Carneiro RFV, Bezerra AAC, Araujo FF (2010) Coinoculação rizóbio e *Bacillus subtilis* em feijão-caupi e leucena: efeito sobre a nodulação, a fixação de N₂ e o crescimento das plantas. **Cienc. Rural** 40:182-185.

Araujo FF (2008) Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, 32:456-462.

Araujo FF e Hungria M (1999) Nodulação e Rendimento de Soja Co-Infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum* / *Bradyrhizobium elkanii*. **Pesq. agropec. bras.** 34:1633-1643.

Bader NA, Salerno GL, Covacevich F, Consolo VF (2020) Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus

solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of King Saud University – Science** 32:867 – 873.

Bai B, Liu C, Zhang C, He X, Wang H, Peng W, Zheng C (2022) *Trichoderma* Species from Plant and Soil: An Excellent Resource for Biosynthesis of Terpenoids with Versatile Bioactivities. **Journal of Advanced Research** 1 – 22

Bakaiyang L, Madjadoumbaye J, Boussafir Y, Szymkiewicz F, Duc M (2021) Re-use in road construction of a Karal-type clay-rich soil from North Cameroon after a lime/cement mixed treatment using two different limes. **Case Studies in Construction Materials** 15:1-16.

Baratto NLB, Bone YC, Nystrom JN, Baratto PFB, Fuchs JPS (2021) Calagem e Gessagem Dos Solos: Uma Revisão Da Literatura. **Salão do Conhecimento** 7:1-11.

Barros JFC e Calado JGA (2014) **Cultura do Milho**. Universidade de Évora, 52p. (Universidade de Évora. Texto de Apoio)

Bartolin GS, Wiethan MMS, Vey RT, Oliveira JCP, Kopp MM, Silva ACF (2019) *Trichoderma* na Promoção do Desenvolvimento de Plantas de *Paspalum Regnelli* Mez. **Revista de Ciências Agrárias**. 135 – 145.

Bettiol W, Silva JC, Castro MLMP (2019) Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In.: MAYER MC, MAZARO SM, SILVA JC **Trichoderma Uso na Agricultura**. EMBRAPA, p. 21 – 44.

Blanco NHM, Mendonça CG, Graichen FAS (2022) Efficiency and Delivery Methods of *Trichoderma harzianum* on Biological Control Against Southern Blight in Sweet Pepper. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 17:1 - 7.

Boaretto AE, Raij BV, Silva FC, Chitolina JC, Tedesco MJ, Carmo CAFS (2009) Amostragem, Acondicionamento e Preparo de Amostras de Plantas para Análise Química. In.: SILVA FC **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes**. EMBRAPA, p.59 – 85.

Bortoletto AIM e Alcarde AR (2015) Dominante nos EUA, etanol de milho é opção, no Brasil, para safra excedente. **Piracicaba: Visão Agrícola** p. 135-137.

Bettiol W, Pinto ZV, Silva JC, Forner C, Faria MR, Pacifico MG, Costa LSAS (2019) Produtos Comerciais a Base de *Trichoderma*. In.: MEYER MC, MAZARA SM, SILVA JC **Trichoderma Uso na Agricultura**. EMBRAPA, p. 45 – 162.

Brugnera RL (2012) Avaliação do uso de pó de rocha basáltica como fertilizante alternativo na cultura da rúcula. 51 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Agrônômica, Faculdade Dinâmica das Cataratas (Udc), Foz do Iguaçu.

Buchelt AC, Metzeler CR, Castiglioni JL, Dasooler TF, Lubian MS (2019) Aplicação de bioestimulantes e *Bacillus subtilis* na germinação e desenvolvimento inicial da

cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical** 6:69-74.

Camargo FP, Fredo CE et al. (2022) Previsões e Estimativas das Safras Agrícolas do Estado de São Paulo, Intenção de Plantio do Ano Agrícola 2022/23 e Levantamento Final Ano Agrícola 2021/22, Setembro de 2022. **Análises e Indicadores do Agronegócio São Paulo** 17:1-14.

Cannaval, R. Etanol de Milho e Cana. InnovaTech Consulting. 2021.

Chagas LFB, Chagas JAF, Soares LP, Fidelis RR (2017) *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical** 4:97-102.

Coelho AM e França GE (1993) Seja o Doutor do seu Milho Nutrição e Adubação. Potafos. p. 1 – 4.

Coelho JD (2020) **Milho: Produção e Mercados**. Fortaleza - Ce: Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – Etene. 8p.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira- Grãos Safra 2020/21 –: Sexto levantamento Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, v. 9, 2020. 97p.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira- Grãos Safra 2021/22 –: Décimo Primeiro levantamento Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, v. 9, 2020. 86p

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira- Grãos Safra 2022/23 –: Quarto levantamento Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, v. 10, 2023. 83p

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Análise Mensal Milho Junho/Julho 2019. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, v. , 2019. 4p.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Perspetivas para a agropecuária –: Nono levantamento – Safra 2019/2020. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, v. 7, 2019. 102p.

Cruz JC, Magalhães PC, Filho IAP, Moreira JAA (2011) O Produtor Pergunta a Embrapa Responde: Milho. EMBRAPA. p.338.

Cunho EG (2017) Gestão e Sustentabilidade Através do Plano de Manejo Agroecológico: Estudo de Caso de uma Área Agrícola Degradada In: II SIMPÓSIO EM GESTÃO DO AGRONEGÓCIO. Sustentabilidade e Segurança Alimentar: Novas Demandas ao Agronegócio, 18p.

Duarte VH, Velentini MHK, Santos GB, Nadaletti WC, Vieira B (2022) Biocombustíveis: uma revisão sobre o panorama histórico, produção e aplicações do biodiesel. **Meio Ambiente (Brasil)** 4:050-068.

Duarte AP, Gerage AC (2011) et al. Milho Safrinha In.: Cruz CJ, Magalhães PC, Filho IAP, Moreira JAA. **Milho: O Produtor Pergunta a Embrapa Responde**. EMBRAPA, p. 458 – 324, 2011.

Elkelish AA, Alhaithloul HAS, Qari SH, Soliman MH, Hasanuzzaman M (2020) Pretreatment with *Trichoderma harzianum* Alleviates Waterlogging-induced Growth Alterations in Tomato Seedlings by Modulating Physiological, Biochemical, and Molecular Mechanisms. **Environmental and Experimental Botany** 171:1 - 15.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Circular Técnica 75, dezembro 2006. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Sete Lagoas, MG p. 1– 6.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Circular Técnica 83, dezembro 2006. Doenças na Cultura do Milho**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Sete Lagoas, MG p.1–14.

Fagan EB, Medeiros SLP, Mafron PA, Casarolil D, Simon J, Neto DD, Lier QJV, Santos OS, Muller L (2007) Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja- Revisão. **Revista da FZVA** 14:89-106, 2007.

Fageria NK (2000) Níveis adequados e tóxicos de zinco na produção de arroz, feijão, milho, soja e trigo em solo dos cerrados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 4:390-395.

Fanquin, V (2005). **Nutrição Mineral de Plantas**. 186 f. Dissertação (Pós- Graduação) - Curso de Especialização de Fertilidade Do Solo E Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Lavras.

Fernandes JPT, Nascente AS, Fillipi MCC, Lanna AC, Silva MA, Silva GB (2021) Effects of beneficial microorganisms on upland rice performance. **Rev. bras. eng. agríc. Ambiente** 25:156-162.

Ferreira DF (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia** 35:1039-1042.

Freitas FO (2001) **Estudo Genético-Evolutivo de Amostras Modernas e Arqueológicas de milho (*Zea mays*, L.) e Feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.)**. 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP.

Fukami J, Cerezini P, Hungria M (2018) *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. **Amb Express** 8:1-12.

Gupta R, Noureldeen AA, Darwish H (2021) Rhizosphere mediated growth enhancement using phosphate solubilizing rhizobacteria and their tri-calcium phosphate solubilization activity under pot culture assays in Rice (*Oryza sativa*.). **Saudi**

Journal of Biological Sciences 28:3692- 3700.

Horwat DEG, Pltronieri PT, Nack DCRD, Brum JS (2019) Vitaminas e Minerais na Nutrição de Suínos: Revisão de Literatura. **Nutri Time** 16:8498–8507.

Hungria M, Campo RJ, Mendes IC (2000) Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. In: Workshop Nitrogênio na sustentabilidade de sistemas intensivos de produção agropecuária, Dourados, MS. Anais... Dourados: Embrapa.

Inbar J, Abramsky M, Cohen D, Chet I (1994) Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. **European journal of plant pathology** 100:337-346.

Jaborova D, Enakiev Y, Sulaymanov K, Kadirova D, Ali A, Annapurna K (2021) Plant growth promoting bacteria *Bacillus subtilis* promote growth and physiological parameters of *Zingiber officinale* Roscoe. **Plant Science Today** 8:66-71.

Junior AFC, Junior GMB, Lima CA, Martins ALL, Souza MC, Chagas LFB (2022) *Bacillus subtilis* como inoculante promotor de crescimento vegetal em soja. **Diversitas Journal** 7:0001-0016.

Junior DCF, Graffitti MS, Junior RC, Silva MF, Junior AS, Werlang RC, Brito CH (2016) Biomassa e Diâmetro de Colmo de Milho Sob Tratamento de Sementes com Inseticidas e Fungicidas. In: XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Anais... p. 918–921.

Junior DCF, Smiljanic KBA, Matos FSA, Perozini AC, Sousa JVA, Junior LFR (2020) Análise das variáveis tecnológicas do milho em função das doses crescentes de condicionador pó de rocha. **Brazilian Journal of Development** 6:88440-88446.

Júnior JJA, Smiljanic KBA, Matos FSA, Lazarini E, Simon GA, Silva RF (2020) Avaliação dos componentes químicos da parte aérea da cana-de-açúcar tratada com doses crescentes do condicionador pó de rocha de origem “Basalto Gabro. **Brazilian Journal of Development** 6:88418-88424.

Kakabouki I, Tataridas A et al. (2021) Effect of Colonization of *Trichoderma harzianum* on Growth Development and CBD Content of Hemp (*Cannabis sativa* L.). **Microorganisms** 1 – 14.

Kang S, Hamuyun M, Khan MA, Iqbal A, Lee I (2019) *Bacillus subtilis* JW1 enhances plant growth and nutrient uptake of Chinese cabbage through gibberellins secretion. **J. Appl. Bot. Food Qual.** 92:172-178.

Katsenios N, Andreou V, et al. (2022) Assessment of plant growth promoting bacteria strains on growth, yield and quality of sweet corn. **Scientific Reports** 12:1-13.

Kaur S, Kumar V, Chwala M, Cavallo L, Poataer A, Upadhyay N (2017) Pesticides Curbing Soil Fertility: Effect of Complexation of Free Metal Ions. **Frontiers in**

Chemistry 5:1–10.

Kleifeld O e Chet I (1992) *Trichoderma harzianum*—interaction with plants and effect on growth response. **Plant and soil** 144:267-272.

Kovács AT (2019) *Bacillus subtilis*. **Trends in microbiology** 27: 724- 725.

Kuçuk C, Kivanç M, Kinaci E, Kinaci G (2008) Determination of the growth and solubilization capabilities of *Trichoderma harzianum* T1. **Versita** 62:167–170.

Kumar R, Kumawat N, Sagu YK (2017) Role of Biofertilizers in Agriculture. **Popular Kheti** 5:63–66.

Kumar V e Dwivedi SK (2019) Hexavalent Chromium Stress Response, Reduction Capability and Bioremediation Potential of *Trichoderma* sp. Isolated from Electroplating Wastewater. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 185:1–12.

Lee S, Lee S, Balaraju K, Park K, Nam K, Park J, Park K (2014) Growth promotion and induced disease suppression of four vegetable crops by a selected plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) strain *Bacillus subtilis* 21-1 under two different soil conditions. **Acta Physiologiae Plantarum** 36:1353-1362.

Lim J e Kim S (2009) Synergistic plant growth promotion by the indigenous auxins-producing PGPR *Bacillus subtilis* AH18 and *Bacillus licheniformis* K11. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry** 52:531-538.

Lima K S, Galiza M, Valadares A, Alves F (2020) **Produção e Consumo de Produtos Orgânicos no Mundo e no Brasil**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEIA). p. 7–24.

Lima FF, Nunes LAPL, Figueiredo MVB, Araujo FF, Lima LM, Araujo ASF (2011) *Bacillus subtilis* e adubação nitrogenada na produtividade do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 6:657-661.

Liu L, Xu Y, Cao H, Fan Y, Du K, Bu X, Gao D (2022) Effects of *Trichoderma harzianum* Biofertilizer on Growth, Yield, and Quality of Bupleurum Chinense. **Plant Direct** 6:1–13.

Lobo LLB, Silva MSRA, Carvalho RF, Rigobelo EC (2022) The Negative Effect of Coinoculation of Plant Growth-Promoting Bacteria Is Not Related to Indole-3-Acetic Acid Synthesis. **Microorganisms** 10:1-14.

Lu Z, Tu G, Zhang T, Li Y, Wang X, Zhang Q, Song W, Chen J (2020) Screening of antagonistic *Trichoderma* strains and their application for controlling stalk rot in maize. **Journal of Integrative Agriculture** 19:145-152.

Machado RG, Sá ELS, Damasceno, GR, Hahn L, Alemida D, Moraes T, Camargo Fao, Reartes DS (2011) Promoção de crescimento de *Lotus corniculatus* L. e

Avena strigosa Schreb pela inoculação conjunta de *Trichoderma harzianum* e rizóbio. **Ciência e Natura** 33:111-126.

Manfre ER, Faria AF, Santos AO, Martins AE, Macena FC (2019) O Sistema De Plantio Direto Na Produção De Milho. A Importância Das Plantas Da Cobertura Em Lavouras. **Anais Sintagro** 11:329 – 333.

Meena VS, Maurya BR, Verma JP, Aeron A, Kumar A, Kim K, Bajpai VK (2015) Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR): Isolation, identification, and K-release dynamics from waste mica. **Ecological Engineering** 81:340–347.

Meena VS, Meena SK, Verma JP, Kumar A, Aeron A, Mishra PK (2017) Plant beneficial rhizospheric microorganism (PBRM) strategies to improve nutrients use efficiency: a review. **Ecological Engineering** 107:8-32.

Mendes CT (1934) Botânica do Milho. Brazilian Journal Of Agriculture - **Revista de Agricultura** 9:223-235.

Mello DJR, Basilio AS, Silva MB, Vaz V, Pires JPD, Berti MPS (2021) Produtividade e qualidade de sementes de feijão em resposta a fertilizante mineral, biofertilizante e pó de rocha. **Revista Cultura Agrônômica** 30:78-92.

Minari GD, Saran LM, Constancio MTL, Silva RC, Rosalen DL, Melo WJ, Alves LMC (2020) Bioremediation potential of new cadmium, chromium, and nickel-resistant bacteria isolated from tropical agricultural soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 204:1-12.

Mitter EK, Tosi M, Obregón D, Dunfield KE, Germida JJ (2021) Rethinking crop nutrition in times of modern microbiology: innovative biofertilizer technologies. **Front Sustain Food Syst** 5:1-23.

Miyazawa M, Pava MP, Muraoka T, Carmo CAFS, Mello WJ (1999) Análises Químicas de Tecido Vegetal. In.: Silva FC **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes**. EMBRAPA, p. 171 – 223.

MAhmoodian S, Kowsari M, Motallebi M, Zamani M, Jahromi ZM (2022) Effect of Improved *Trichoderma harzianum* on Growth and Resistance Promotion in Bean Plant. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 65:1–10.

Mohamed EAH, Farag AG, Youssef AS (2018) Phosphate solubilization by *Bacillus subtilis* and *Serratia marcescens* isolated from tomato plant rhizosphere. **Journal of Environmental Protection** 9:266-277.

Mohamed HI e Gomaa EZ (2012) Effect of plant growth promoting *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on growth and pigment composition of radish plants (*Raphanus sativus*) under NaCl stress. **Photosynthetica** 50:263-272.

Ng CWW, Yan WH, Tsim KWK, So PS, Xia YT, To CT (2022) Effects of *Bacillus*

subtilis and *Pseudomonas fluorescens* as the soil amendment. **Heliyon** 8:2-10.

NORTOX. INFORMATIVO TÉCNICO NORTOX. Cigarrinha do Milho p.1-3.

Oliveira CA, Ribeiro VP, Gomes EA, Pinho JMR, Lana UGP, MarrieL IE (2016) Produtividade do milho inoculado com bactérias endofíticas e rizobactérias solubilizadoras de fosfato na região Centro- Oeste brasileira. In.: Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Anais... 31., 216, Bento Gonçalves - RS. EMBRAPA p.1–4.

Parra JRP (2019) Controle biológico na agricultura brasileira. **Entomological Communications** 1:2675-1305.

Pedrosa MV, Alves LP, Paschoa RP, Amaral AA (2015) Importância ecológica dos microrganismos do solo. **Enciclopédia Biosfera** 11:1-15.

Pereira AR (1987) Estimativa da área foliar em milharal. **Bragantia** 46:147-150.

Rahman SFSA, Singh E, Pieterse CMJ, Schenck PM (2018) Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. **Plant Science** 267:102-111.

Raij BV, Andrade JC, Cantarella H, Quaggio JÁ (2001) Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais. Campinas, Instituto Agrônomo, 285p.

Ramos CG, Hower JC, Blanco E, Oliveira MLS, Theodoro SH (2022) Possibilities of using silicate rock powder: An overview. **Geoscience Frontiers** 13:1–11.

Resende ML, Oliveira JA, Guimarães RM, Pinho RGV, Vieira AR (2004) Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia** 28:793-798.

Ribeiro IDA, Volpiano CG, Vargos LK, Granada CE, Lisboa BB, Passagila LMP (2020) Use of mineral weathering bacteria to enhance nutrient availability in crops: a review. **Frontiers in plant science** 11:1-20.

Ribeiro JM (2018) **Eficiência de controle da cigarrinha-do-milho por dois fungos entomopatógenos, associados com o indutor de resistência K₂SiO₃, em plantas de *Zea mays* (var. *saccharata*) sob condições de campo**. 34 f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Instituto Federal Goiano - Urutaí.

Saber WI, Ghoneem KM, Rashad YM, Al-Askar AA (2017) *Trichoderma harzianum* WKY1: an indole acetic acid producer for growth improvement and anthracnose disease control in sorghum. **Biocontrol Science and Technology** 27:654–676.

Salla DA, Furlaneto FPD, Cabello C, Kantack RAD (2010) Estudo energético da produção de biocombustível a partir do milho. de biocombustível a partir do milho. **Ciência Rural** 40:1–6.

Sanomiya LT e Nahas E (2003) Microrganismos produtores de hidrolases envolvidos nas transformações dos compostos do carbono e do nitrogênio do solo. **Cienc. Rural Santa Maria** 33:835-842.

Santos JKF, Filho RFC, et al. (2021) Desenvolvimento de plantas de milho submetidas a doses de adubação NPK mineral e organomineral. **Research, Society and Development** 10:1-15.

Shaaban M, Wu Y, et al. (2020) The effects of pH change through liming on soil N₂O emissions. **Processes** 8:2-13.

Silveira CM, Souza GVL, Moura LCB, Junior RN, Santos B, Nogueira R, Bizão AA (2021) Aplicação de Pó de Rocha Basáltica (PRB) em Cultivo de Cana de Ano. IV Congresso Brasileiro de Rochagem, **Anais...** p. 263 – 270.

Silva DF, Garcia PHM, et al. (2021) Características Morfológicas, Melhoramento Genético e Densidade de Plantio das Culturas do Sorgo e do Milho: Uma Revisão. **Research, Society and Development** 10:1-9.

Silva HJT, Santos PFA, Junior ECN, Vian CEF (2020) Aspectos técnicos e econômicos da produção de etanol de milho no Brasil. **Revista de Política Agrícola** 29:142-159.

Silva MO, Santos MP, Sousa ACP, Silva RLV, Moura IA, Silva RS, Costa KDS (2021) Qualidade do solo: indicadores biológicos para um manejo sustentável. **Brazilian Journal of Development** 7:6853-6875.

Silveira ML e Lima FMRS (2007) O uso de pó de rocha fosfática para o desenvolvimento da agricultura familiar no Semi-Árido brasileiro, Rio de Janeiro, RJ. In: JORNADA DA INICIAÇÃO CIENTÍFICA, **Anais...** p. 15.

Simao EP, Resende AV, Neto MMG, Borghi E, Vanin A (2018) Resposta do milho safrinha à adubação em duas épocas de semeadura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 17:76-90.

Steffen GPK, Tomazzi DJ, Steffen RB, Silva RF, Mortari JLM, Maldaner J (2021) Incremento da produtividade de milho pela inoculação de *Trichoderma Harzianum*. **Brazilian Journal of Development** 4455 – 4468.

Sousa VFA (2020) Cultura do Milho-verde e Sua Importância Socioeconômica. In Souza VF e Zonta JB **Cultivo de Milho-verde Iriigado na Baixada Maranhense**. EMBRAPA, p. 15–18.

Sun B, Gu L, Bao L, Zhang S, Wei Y, Bai Z, Zhuang G, Zhuang X (2020) Application of biofertilizer containing *Bacillus subtilis* reduced the nitrogen loss in agricultural soil. **Soil Biology and Biochemistry** 148:1-10.

Sun S, Sidhu V, Rong Y, Zheng T (2018) Pesticide Pollution in Agricultural Soils and

Sustainable Remediation Methods: a Review. **Current Pollution Reports** 4:240–250.

Swain MR, Laxminarayana K, Ray RC (2012) Phosphorus solubilization by thermotolerant *Bacillus subtilis* isolated from cow dung microflora. **Agricultural Research** 1:273-279.

Tahir HAS, Gu Q, Wu H, Reza W, Hanif A, Wu L, COLAN MV, GAO X (2017) Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. **Frontiers in Microbiology** 8:1-11.

Theodoro SMCH, Leonardos O, Rocha EL, Rego KG (2006) Experiências de uso de rochas silicáticas como fonte de nutrientes. **Espaço & Geografia** 9:263–292.

Toscani RGS e Campos JEG (2017) Uso de pó de basalto e rocha fosfatada como remineralizadores em solos intensamente intemperizados. **Geociências** 36:259-274.

Veloso C (2020) Rochagem: Tudo o que você precisa saber sobre o uso de pós de rocha na agricultura. **Blog Verde**.

Vieira MGM, Iza OB, Korz C, Fischer J (2019) Agricultura Sustentável: favorecendo ambientes saudáveis e o empoderamento feminino. **Rev. Ed. Popular Uberlândia** 18:4 -25.

Wagatsuma E, Santos JI, Rogerio F, Silva TRB (2012) Influência de *Azospirillum brasilense* e *Trichoderma harzianum* na cultura do milho. **Revista Cultivando o Saber** 5:132-141.

Félix AP, Maiorka A, Sorbara JOB (2009) Níveis vitamínicos para frangos de corte. **Ciência Rural** 39:1–8.

Wolschick PRD, Schuch FS, Gerber T, Sartoretto LM (2016) Efeito do pó de rocha basáltica sobre a germinação de *Cedrela fissilis*. **Agropecuária Catarinense** 29:76-80.

Writzl TC, Canepelle E, Stein JES, Kerkhoff JT, Steffler AD, Silva DW, Redin M (2019) Produção de milho pipoca com uso do pó de rocha de basalto associado à cama de frango em Latossolo. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável** 9:101-109.

Yedidia I, Srivastva AK, Chet I (2001) Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and soil** 235:235-242.

Zapata-Sarmiento DH, Palacios-Pala EF, RODríguez-Hernández AA, Melchor DLM, Rodríguez-Monroy M, Sepúlveda-Jiménez G (2020) *Trichoderma asperellum*, a Potential Biological Control Agent of *Stephylium vesicarium*, on onion (*Allein cepa* L.). **Biological Control** 140:1-9.

Zhao M e Chen B (2022) Corn Oil. In.: Reference Module in Food Science, **Elsevier**.