



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

DANIEL FERNANDO VIANA FAGUNDES

**COMBINAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE CEPAS DE *Bacillus*  
spp. e *Pseudomonas* spp. PARA SOLUBILIZAÇÃO DE  
FOSFATO E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO NA CULTURA  
NA SOJA E MILHO**

DANIEL FERNANDO VIANA FAGUNDES

**COMBINAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE CEPAS DE *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. PARA SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO NA SOJA E MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Simões  
Azeredo Gonçalves

Coorientador: Dr. Leandro Afonso da  
Silva

Londrina  
2026

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

F156 Fagundes, Daniel Fernando Viana .  
Combinação biotecnológica de cepas de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. para solubilização de fosfato e promoção de crescimento na soja e milho / Daniel Fernando Viana Fagundes. - Londrina, 2026.  
95 f.  
  
Orientador: Leandro Simões Azeredo Gonçalves.  
Coorientador: Leandro Afonso da Silva.  
Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2026.  
Inclui bibliografia.  
  
1. Consórcio microbiano - Tese. 2. Fósforo - Tese. 3. Nutrição - Tese. 4. Inoculante - Tese. I. Gonçalves, Leandro Simões Azeredo . II. da Silva, Leandro Afonso . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

DANIEL FERNANDO VIANA FAGUNDES

**COMBINAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE CEPAS DE *Bacillus spp.* e *Pseudomonas spp.* PARA SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO NA SOJA E MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves

---

Coorientador Dr. Leandro Afonso da Silva  
Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná – IDR Paraná

---

Prof. Dr. Fabio Lopes Olivares  
Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF

---

Dr. Marco Antonio Nogueira  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Londrina, 27 de fevereiro de 2026.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente à minha família, exclusivamente aos meus pais João e Rosane ao meu irmão João Paulo e à minha tia Renata que sempre me apoiaram e ajudaram nos momentos mais difíceis.

Ao Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves, meu orientador e amigo, que sempre me auxiliou em todos os momentos necessários e sendo um grande exemplo de profissional e de pessoa.

Aos colegas e amigos de laboratório que contribuíram muito ao desenvolvimento deste trabalho, frisando Antoni Marcos, Alison Nogueira, Henry Cava, Wellington Usukura e Beatriz Silveira que deram um suporte muito especial ao desenvolvimento de todo o projeto. Também a todos os estagiários que sempre estiveram apoiando na montagem e retirada dos experimentos. E não menos importante todos os meus amigos que vêm me acompanhando em todo o decorrer da vida.

A todo o time da BIOINPUT, pelo apoio fundamental para a realização do presente trabalho, com especial agradecimento a Mirela Mosela e ao meu coorientador Leandro Afonso da Silva, pela orientação, disponibilidade e valiosas contribuições ao longo de todo o desenvolvimento deste estudo.

À CAPES e à Universidade Estadual de Londrina pela disponibilização da estrutura e pelo fornecimento da bolsa de mestrado.

**“Na natureza, nada vive sozinho.”**

Rachel Carson

## RESUMO

Fagundes, Daniel Fernando Viana. **Combinação biotecnológica de cepas de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. para solubilização de fosfato e promoção de crescimento na soja e milho.** 2026. 96f. Dissertação – Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2026.

A baixa disponibilidade de fósforo (P) é um dos principais fatores limitantes à produtividade agrícola, uma vez que grande parte do nutriente aplicado via fertilizantes torna-se indisponível devido à interação química com óxidos de ferro e alumínio e cálcio, reduzindo sua eficiência de uso pelas plantas. Nesse contexto, o uso de microrganismos promotores de crescimento vegetal surge como alternativa sustentável para aumentar a disponibilidade e a eficiência de uso desse nutriente. O presente trabalho teve como objetivos avaliar e selecionar isolados de *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. com potencial para solubilização de fosfato e promoção do crescimento vegetal, bem como verificar se a coinoculação dessas bactérias pode promover uso mais eficiente do P. Para isso, foram realizadas bioprospecções de microrganismos associados à rizosfera de plantas cultivadas em áreas agrícolas dos estados do Paraná e Mato Grosso do Sul. Os isolados foram caracterizados quanto à capacidade de solubilização de fosfatos e produção de ácido indolacético (AIA) e posteriormente avaliados em experimentos conduzidos em casa de vegetação com milho e soja, sendo 8 *Bacillus* sp. e 20 *Pseudomonas* sp. Na caracterização *in vitro*, diversos isolados apresentaram expressiva capacidade de solubilização de fosfatos e produção de AIA, indicando múltiplos mecanismos de promoção do crescimento vegetal. A análise dos ácidos orgânicos revelou predominância do ácido glucônico, reconhecido como um dos principais agentes envolvidos na solubilização de fosfatos insolúveis. Em casa de vegetação, a inoculação com isolados de *Bacillus* sp. promoveu incrementos consistentes na massa seca de raízes e parte aérea do milho, mesmo sob redução de 30% da adubação fosfatada, indicando maior eficiência na aquisição e utilização do fósforo. Os isolados de *Pseudomonas* sp. também apresentaram desempenho agrônomo relevante nas culturas do milho e da soja, com aumento significativo da biomassa vegetal e do desenvolvimento radicular, destacando-se isolados capazes de apresentar desempenho semelhante ao controle com adubação completa, mesmo sob adubação fosfatada reduzida. Os testes de compatibilidade demonstraram ausência de antagonismo relevante entre os isolados selecionados. A coinoculação de *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. resultou em efeitos sinérgicos sobre o crescimento vegetal, promovendo maior produção de biomassa em comparação às inoculações individuais, assim como um aumento na aquisição deste nutriente. Esses resultados indicam complementariedade funcional entre os microrganismos e evidenciam o potencial do uso de consórcios microbianos para aumentar a eficiência de uso do fósforo e contribuir para sistemas agrícolas mais sustentáveis.

**Palavras-chave:** consórcio microbiano; bioinoculantes; fósforo; promoção de crescimento vegetal; agricultura sustentável.

## ABSTRACT

Fagundes, Daniel Fernando Viana. **Biotechnological combination of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. strains for phosphate solubilization and growth promotion in soybean and maize**. 2026. 96 p. Dissertation (Master's in Agronomy) – Graduate Program in Agronomy, State University of Londrina, Londrina, 2026.

Low phosphorus (P) availability is one of the main limiting factors for agricultural productivity, as a large proportion of the nutrient applied via fertilizers becomes unavailable due to chemical interactions with iron and aluminum oxides and calcium, reducing its use efficiency by plants. In this context, the use of plant growth-promoting microorganisms emerges as a sustainable alternative to increase the availability and use efficiency of this nutrient. The present study aimed to evaluate and select *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. isolates with potential for phosphate solubilization and plant growth promotion, as well as to verify whether the co-inoculation of these bacteria can promote more efficient phosphorus use. To this end, bioprospecting of microorganisms associated with the rhizosphere of plants cultivated in agricultural areas in the states of Paraná and Mato Grosso do Sul was carried out. The isolates were characterized for their ability to solubilize phosphates and produce indole-3-acetic acid (IAA), and were subsequently evaluated in greenhouse experiments with maize and soybean, including 8 *Bacillus* sp. and 20 *Pseudomonas* sp. isolates. In the *in vitro* characterization, several isolates showed a strong capacity for phosphate solubilization and IAA production, indicating multiple mechanisms of plant growth promotion. The analysis of organic acids revealed a predominance of gluconic acid, recognized as one of the main agents involved in the solubilization of insoluble phosphates. Under greenhouse conditions, inoculation with *Bacillus* sp. isolates promoted consistent increases in root and shoot dry mass of maize, even under a 30% reduction in phosphate fertilization, indicating greater efficiency in phosphorus acquisition and utilization. *Pseudomonas* sp. isolates also showed relevant agronomic performance in maize and soybean, with significant increases in plant biomass and root development. Notably, some isolates performed similarly to the fully fertilized control, even under reduced phosphate fertilization. Compatibility tests demonstrated the absence of significant antagonism among the selected isolates. The co-inoculation of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. resulted in synergistic effects on plant growth, promoting greater biomass production compared to individual inoculations, as well as increased phosphorus acquisition. These results indicate functional complementarity between the microorganisms and highlight the potential of microbial consortia to improve phosphorus use efficiency and contribute to more sustainable agricultural systems.

**Key-words:** Microbial consortium; bioinoculants; phosphorus; plant growth promotion; sustainable agriculture.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> - Classificação dos fertilizantes fosfatados.....                                                                                                                             | 26 |
| <b>Figura 2</b> - Mecanismos de ação de fertilizantes fosfatados eficientes.....                                                                                                              | 26 |
| <b>Figura 3</b> - Efeito da inoculação de <i>Bacillus</i> spp. solubilizadores de fosfato na produção de biomassa de milho sob duas doses de fertilizante.....                                | 53 |
| <b>Figura 4</b> - Efeito da inoculação de <i>Pseudomonas</i> spp. solubilizadoras de fosfato na produção de biomassa de milho e soja sob duas doses de fertilizante.....                      | 57 |
| <b>Figura 5</b> - Árvores filogenéticas inferidas a partir de sequências do gene 16S rRNA para posicionar as cepas deste estudo em relação a linhagens de referência.....                     | 59 |
| <b>Figura 6</b> – Ensaio de compatibilidade entre isolados de <i>Bacillus</i> spp. (linhas verticais) e <i>Pseudomonas</i> spp. (linhas horizontais) pelo método de <i>cross-streak</i> ..... | 63 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Caracterização química e granulométrica do solo utilizado nos experimentos na cultura do milho e da soja (0–20 cm) .....                                                                                                                                                                                                                | 39 |
| Tabela 2. Matriz de combinações entre isolados de <i>Bacillus</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. para formação dos consórcios .....                                                                                                                                                                                                               | 42 |
| Tabela 3. Avaliação in vitro de características associadas à promoção de crescimento e proteção vegetal dos isolados de <i>Bacillus</i> .....                                                                                                                                                                                                     | 47 |
| Tabela 4. Relação de isolados bioprospectados, pertencentes ao gênero <i>Pseudomonas</i> e suas caracterizações quanto à capacidade de crescimento em temperatura elevada, antagonismo contra fungos fitopatogênicos, solubilização de fósforo e potássio e a produção do fitohormônio AIA.....                                                   | 48 |
| Tabela 5. Análise de variância da massa seca de raiz, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimento com milho, com sementes inoculados com <i>Bacillus</i> sp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob aplicação de fertilizantes.....                                                                | 51 |
| Tabela 6. Análise de variância da massa seca de raiz, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimentos com milho e soja, com sementes inoculados com <i>Pseudomonas</i> sp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob aplicação de fertilizantes.....                                                     | 54 |
| Tabela 7. Análise de agrupamento de médias para massa seca de raiz, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimentos com milho e soja, com sementes inoculados com <i>Pseudomonas</i> sp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob aplicação de fertilizantes.....                                       | 55 |
| Tabela 8. Produção de ácido orgânico (mmol L <sup>-1</sup> ) nos isolados de <i>Bacillus</i> e <i>Pseudomonas</i> em meio NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) com AlPO <sub>4</sub> , FePO <sub>4</sub> e Ca <sup>3</sup> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .....                                                             | 61 |
| Tabela 9. Análise de variância da massa seca de raiz, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimentos com milho e soja, com sementes inoculados com consórcio de <i>Bacillus</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob aplicação de fertilizantes.....                | 64 |
| Tabela 10. Análise de agrupamento de médias para massa seca de raiz, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimentos com milho e soja, com sementes inoculados com consórcio de <i>Bacillus</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob aplicação de fertilizantes..... | 66 |

Tabela 11. Eficiência agronômica, de recuperação e fisiológica (AE, RE e PE, respectivamente) do fósforo (P) em milho e soja sob adubação com 70% de P com inoculação de bactérias solubilizadoras de P, expressas como variação percentual em relação ao controle com 70% de P.....69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|      |                                                    |
|------|----------------------------------------------------|
| PGPR | Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas |
| MSPA | Massa Seca Da Parte Aérea                          |
| MSR  | Massa seca raiz                                    |
| ABA  | Ácido abscísico                                    |
| AIA  | Ácido Indolacético                                 |
| Pi   | Fósforo inorgânico                                 |
| Po   | Fósforo orgânico                                   |
| ATP  | Adenosina trifosfato                               |
| MAP  | Fosfato monoamônico                                |
| DAP  | Fosfato diamônico                                  |
| TSP  | Super fosfato triplo                               |
| MTP  | Termofosfato de magnésio                           |
| PUE  | Eficiência de uso do fósforo                       |
| PUpE | Eficiência de aquisição do fósforo                 |
| PUtE | Eficiência da utilização do fósforo                |

## SUMÁRIO

|                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                | <b>15</b> |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                                      | <b>17</b> |
| 2.1 importância econômica da soja .....                                                  | 17        |
| 2.2 Importância econômica do milho .....                                                 | 17        |
| 2.3 principais estresses abióticos na cultura da soja e do milho .....                   | 18        |
| 2.4 fósforo .....                                                                        | 19        |
| 2.4.1 Fluxo do P.....                                                                    | 21        |
| 2.4.2 Importância do fósforo na agricultura.....                                         | 22        |
| 2.5 estratégias para aumentar a eficiência no uso do fósforo .....                       | 23        |
| 2.5.1 Manejo do solo e aplicação.....                                                    | 24        |
| 2.5.2 Eficiência de fertilizantes fosfatados .....                                       | 25        |
| 2.5.3 Melhoramento genético.....                                                         | 27        |
| 2.6 estratégias de solubilização e mineralização de P por microrganismos<br>28           |           |
| 2.6.1 Solubilização de fosfatos .....                                                    | 29        |
| 2.6.2 Mineralização.....                                                                 | 30        |
| 2.7 Gênero <i>bacillus</i> spp.....                                                      | 31        |
| 2.8 Gênero <i>Pseudomonas</i> sp.....                                                    | 33        |
| 2.9 consórcios microbianos.....                                                          | 34        |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                         | <b>36</b> |
| 3.1 Bioprospecção.....                                                                   | 36        |
| 3.2 Caracterização <i>In vitro</i> .....                                                 | 36        |
| 3.2.1 Antagonismo contra fitopatógenos.....                                              | 36        |
| 3.2.2 Compatibilidade com cepas comerciais .....                                         | 37        |
| 3.2.3 Ensaio de solubilização em meio ágar .....                                         | 37        |
| 3.2.4 Quantificação de ácido indolacético (AIA).....                                     | 38        |
| 3.3 Bioprocessos para obtenção de biomassa microbiana (inóculo).....                     | 38        |
| 3.4 Experimento em casa de vegetação – cepas isoladas.....                               | 38        |
| 3.5 Compatibilidade entre os isolados cepa de <i>Bacillus</i> e <i>Pseudomonas</i><br>40 |           |
| 3.6 Sequenciamento 16S rRNA (Sanger) .....                                               | 40        |

|          |                                                                                              |           |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.7      | Produção de ácidos orgânicos .....                                                           | 41        |
| 3.8      | experimento em casa de vegetação – Consórcio microbiano .....                                | 42        |
| 3.9      | Eficiência agrônômica, de recuperação e fisiológica do fósforo .....                         | 44        |
| 3.10     | Análises estatísticas .....                                                                  | 45        |
| <b>4</b> | <b>RESULTADOS.....</b>                                                                       | <b>46</b> |
| 4.1      | Caracterização dos isolados bioprospectados .....                                            | 46        |
| 4.2      | Experimento casa de vegetação – cepas <i>Bacillus</i> .....                                  | 50        |
| 4.3      | Experimento casa de vegetação - Cepas <i>Pseudomonas</i> spp. ....                           | 54        |
| 4.4      | Sequenciamento do rDNA16S .....                                                              | 58        |
| 4.5      | Quantificação de ácidos orgânicos.....                                                       | 60        |
| 4.6      | Compatibilidade <i>in vitro</i> entre isolados de <i>Bacillus</i> x <i>Pseudomonas</i> ..... | 62        |
| 4.7      | Consórcio <i>bacillus</i> spp. x <i>Pseudomonas</i> spp. ....                                | 63        |
| 4.8      | Eficiência agrônômica, de recuperação e fisiológica do fósforo .....                         | 68        |
| <b>5</b> | <b>DISCUSSÃO .....</b>                                                                       | <b>71</b> |
| <b>6</b> | <b>CONCLUSÕES .....</b>                                                                      | <b>75</b> |
| <b>7</b> | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                      | <b>76</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) e o milho (*Zea mays* L.) destacam-se entre as culturas agrícolas de maior relevância econômica no cenário mundial, sendo amplamente utilizados na alimentação humana e animal. O Brasil ocupa atualmente a posição de maior produtor mundial de soja e o terceiro maior de milho. Em 2023, o agronegócio brasileiro exportou aproximadamente 193 milhões de toneladas, das quais o complexo soja e milho representaram cerca de 81% do total (MAPA, 2024).

Dentre os elementos essenciais à nutrição vegetal, o fósforo (P) desempenha papel fundamental por estar envolvido em processos metabólicos vitais, como fotossíntese, respiração celular, síntese de ácidos nucleicos e de ATP (Taiz et al., 2017). A maior parte dos solos brasileiros é altamente intemperizada e menos de 3% do P total está prontamente disponível para as plantas (Pavinato et al., 2020). Essa baixa disponibilidade é atribuída principalmente à forte fixação do P inorgânico às superfícies altamente reativas de óxidos de ferro e alumínio (Pavinato et al., 2020; Rodrigues et al., 2016)

A fim de suprir essa demanda nutricional, o setor agrícola tem se apoiado na aplicação de grandes quantidades de fertilizantes fosfatados. Contudo, além de representar altos custos de produção agravados pela dependência da importação de fosfatos, essa prática é marcada por baixa eficiência agronômica, com grande parte do fósforo retido pelo solo, sendo apenas de 10 a 30% do P aplicado absorvido pelas culturas. O restante se acumula no solo em formas pouco disponíveis, constituindo um estoque conhecido como *legacy P* (Gotz et al., 2024; Pavinato et al., 2024)

Diante desse cenário, torna-se essencial o desenvolvimento de estratégias sustentáveis que visem à otimização da eficiência de uso do P (Richardson; Simpson, 2011). Para tanto, a aplicação de inoculantes vem ganhando cada vez mais espaço, onde os solubilizadores de fosfato desempenham um importante papel na disponibilização desse nutriente. Diversos grupos microbianos, como bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium*, bem como alguns fungos micorrízicos, atuam na solubilização e mineralização de formas indisponíveis de fósforo por meio da liberação de ácidos orgânicos, enzimas fosfatases e substâncias quelantes e são promotores do crescimento vegetal (Guimarães; Klein; Klein, 2023; Mosela et al., 2022).

O consórcio entre microrganismos tem se mostrado uma estratégia promissora para potencializar os efeitos na promoção do crescimento vegetal e a solubilização de P (Kong; Hart; Liu, 2018; Olanrewaju; Babalola, 2019). Nakatani et al., (2024) observaram que a coinoculação de *Azospirillum brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) e *P. fluorescens* CCT8122, mesmo com redução de 25% da adubação fosfatada, proporcionou incremento na massa seca, teor de fósforo e produtividade da soja comparação ao controle.

O presente trabalho tem como objetivos i) avaliar e selecionar o potencial de isolados de *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. como solubilizadores de fosfato e promotores de crescimento de plantas ii) observar se a inoculação combinada de ambos pode aumentar a eficiência de uso do P no solo pelas plantas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma cultura de elevada importância na economia mundial. Seus grãos são utilizados como matéria-prima na agroindústria, tanto na alimentação animal, em rações, quanto na alimentação humana, na forma de óleo vegetal, além de ter aplicações na indústria química, assim seu uso crescente como biocombustível (FREITAS, 2011). O grande uso de seus grãos se deve ao fato de serem ricas em proteína e óleo, contendo aproximadamente de 40% de proteína e 20% de óleo. As sementes de soja são responsáveis por cerca de 70% da proteína mundial oriunda de farinha e por 29% óleo vegetal (ASA, 2018).

A soja é a leguminosa mais produzida no mundo, sendo o Brasil o maior produtor de soja com uma produção na safra de 2024/2025 de mais de 171 milhões de toneladas, seguido por EUA, Argentina e China por aproximadamente 85% da produção mundial de grãos de soja (FAOSTAT, 2025). O Brasil também é o país com maior área produzida da cultura com mais de 44 de Mha o que representa 32,4% de toda área produzida mundialmente, seguido pelos EUA e Argentina com aproximadamente 33 Mha e 14 Mha respectivamente (FAOSTAT, 2025)

O Brasil é um grande exportador de soja, em todo esse século XXI, cerca de 70% ou mais da produção brasileira de soja em grãos foi destinada à exportação, seja na forma de grãos ou de farelo. Na safra 2023/2024 da produção total foram exportados cerca de 65%. O maior importador do produto é a China com mais de 100 milhões de t importadas e o Brasil é responsável pelo fornecimento de 60% de toda importação chinesa dos grãos (MAPA, 2024).

### 2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.), é uma cultura originada das américas e pertence à família Poaceae. Possui grande importância, tanto no valor nutricional dos seus grãos quanto seu retorno econômico, sendo amplamente utilizado tanto na alimentação humana quanto na indústria e na alimentação animal, representa de 60 a 80% do seu consumo no Brasil (Silva; Ferreira, 2024; Taveira et al., 2021).

Essa cultura é cosmopolita, sendo os Estados Unidos, China e Brasil os maiores produtores (FAOSTAT, 2025). O Brasil tem uma produção nas safras 2024/2025 de aproximadamente 124,7 milhões de toneladas de grãos, em uma área plantada de 16,9 milhões de ha (CONAB, 2025). A sua ampla adaptabilidade permite que sejam realizadas até três safras/ano, tanto por produtores com baixa e com alta tecnologia, sendo uma das culturas mais cultivada por pequenos produtores (Andrade et al., 2023).

A cultura do milho vem recebendo muitos investimentos em tecnologia, sendo amplamente estudada e aprimorada ao longo dos anos. Geralmente, os genótipos são selecionados com o objetivo de responder de forma eficiente à adubação, apresentar resistência a pragas e expressar elevado potencial produtivo, resultando em altas produtividades de grãos. Esse avanço tecnológico foi o que contribuiu para o aumento da eficiência agrônômica e para a consolidação do milho como uma das principais culturas de importância econômica no mundo (Pinheiro et al., 2021).

### 2.3 PRINCIPAIS ESTRESSES ABIÓTICOS NA CULTURA DA SOJA E DO MILHO

O estresse abiótico é uma das principais causas de perdas de produtividade das culturas agrícolas em todo o mundo (Warsi; Howladar; Alsharif, 2021). Segundo Alsaedi et al., (2022), mais de 50% das perdas na produtividade agrícola são ocasionadas por estresses abióticos. Esses estresses podem ocorrer sozinho ou em conjunto agravando seus efeitos. Os principais estresses são, déficit hídrico, temperaturas extremas (baixa ou alta), salinidade do solo, alagamentos e deficiência de nutrientes (Taiz et al., 2017). Geralmente, os estresses abióticos provocam maiores perdas na fase reprodutiva, especialmente durante o florescimento, mas seus efeitos prejudiciais podem se estender por todo o ciclo de crescimento da planta (Silva et al., 2021).

Em condições de estresse, as plantas aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que compromete proteínas, interrompe importantes atividades enzimáticas e causa distúrbios no sistema fotossintético, (Khan et al., 2020). Esses estresses também causam fechamento estomático, estresse osmótico, inibição de funções enzimáticas protetoras e alterações na expressão gênica, resultando em crescimento reduzido e menor qualidade nutricional (Giordano; Petropoulos; Roupheal, 2021).

O déficit hídrico, ocorre durante secas prolongadas, afetando diretamente o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das culturas (Caldana et al., 2021; Felipe; Caldana, 2020). Esse estresse ocasiona o aumento da condutância estomática e a condutividade hidráulica do xilema, devido ao aumento de ácido abscísico (ABA) comprometendo a taxa fotossintética. Com o déficit hídrico durante os estádios vegetativos, ocorre limitação da expansão foliar e intensifica a senescência, com fechamento estomático mais frequente e menor troca gasosa (Fritsche-Neto; Dovale, 2012). Nos estádios reprodutivos, os efeitos do déficit hídrico prejudicam o florescimento, formação de vagens e enchimento de grãos, de modo que os efeitos são ainda mais críticos, podendo causar abortamento floral e de vagens (Antolin; Heinemann; Marin, 2021).

O estresse abiótico, causado por temperaturas mais altas ou mais baixas que o ideal, causa danos fisiológicos e bioquímicos (Hasanuzzaman; Nahar; Fujit, 2013). Essas lesões comprometem os processos metabólicos, que ocasiona redução no crescimento e, conseqüentemente, menor produtividade. O estresse térmico causado pelo calor, estimula a produção de compostos fenólicos, como flavonoides e fenilpropanoides, que podem intensificar os danos (Masouleh; Aldine; Sassine, 2020).

Outro importante estresse abiótico é aquele causado pela deficiência de nutrientes, cujos sintomas refletem distúrbios metabólicos resultantes do suprimento insuficiente de um elemento essencial, podendo ser um macro ou um micronutriente (Taiz et al., 2017). Essa deficiência pode resultar em redução significativa no rendimento das culturas (Batista et al., 2024).

## 2.4 FÓSFORO

A concentração de fósforo (P) total no solo é o resultado de diversos processos, sendo eles climáticos, bióticos e de paisagem que interagem ao longo do tempo sobre o material de origem do solo.(He et al., 2021). O P é incorporado ao solo inicialmente por meio do intemperismo de rochas contendo minerais primários que contêm P, principalmente apatitas, sendo esse um processo lento ou ainda pode ser incorporado por meio de minerais secundários, como fosfato de cálcio, ferro e alumínio. O P encontra-se no solo em duas formas: o P inorgânico (Pi) que representa cerca de 35 a 75% do total de P no solo, e o P orgânico (Po) (Kruse et al., 2015; Mishra et al., 2024).

Após o intemperismo, o Pi permanece no solo predominantemente na forma de ortofosfatos, sendo os principais ânions  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e  $\text{HPO}_4^{2-}$ , que são as duas principais formas absorvidas pelas plantas. Dentre elas, o  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  é a forma predominante em solos com pH entre 4,5 e 5,0. Parte do Pi, entretanto, pode ser fixada a complexos minerais, que precipita em formas insolúveis, diminuindo a disponibilidade para as plantas. Essa precipitação é um dos processos químicos que mais limita a produtividade agrícola (De Oliveira-Paiva et al., 2024; Kruse et al., 2015; Mishra et al., 2024).

Em solos alcalinos, o Pi precipita predominantemente com cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), resultando na formação de diferentes fosfatos de cálcio, que apresentam solubilidade baixa, como o fosfato dicálcico, o fosfato octacálcico e, por fim, a hidroxiapatita uma forma altamente estável e pouco solúvel. Em solos ácidos o fósforo precipita principalmente com cátions metálicos de ( $\text{Al}^{3+}$ ) e ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ), formando os minerais strengita (fosfato de ferro) e a variscita (fosfato de alumínio). A oxidação do ferro também pode gerar prótons que diminuem o pH e facilitam o aprisionamento do fosfato (Massucato et al., 2022; Zhu; Li; Whelan, 2018).

O Po mais comum é o fosfato de Inositol que no solo representa aproximadamente 60% de todo Po presente no solo. Outras formas de Po estão contidas na biomassa microbiana do solo, correspondendo a menos de 2% do total (Kafle et al., 2019; Kruse et al., 2015). No entanto, nem todas as formas de Po presentes no solo estão prontamente disponíveis para absorção pelas plantas, pois possuem pesos moleculares relativamente altos e necessitam ser hidrolisadas em fósforo inorgânico (Pi) solúvel, principalmente na forma de ortofosfatos, para que possam ser assimiladas (Kafle et al., 2019).

No solo tanto plantas como microrganismos absorvem P, porém apenas uma pequena fração (<1%) do Pi total e do Po total encontra-se na solução do solo (Bünemann, 2015). Em solos agrícolas o P é fornecido principalmente por meio de fertilizantes inorgânicos derivados de rochas fosfáticas, além da matéria orgânica e de resíduos orgânicos, que também atuam como importantes fontes de fósforo (Ahmad et al., 2018; Massucato et al., 2022).

Do P aplicado no solo na forma de fertilizante, mais de 80% após a aplicação pode se tornar indisponível para as plantas. Isso ocorre, principalmente, devido aos processos de sorção com íons  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  em solos mais ácidos e com  $\text{Ca}^{2+}$  em solos mais alcalinos. Além disso, o processo de precipitação e a imobilização microbiana

também contribuem significativamente para a redução da disponibilidade de P no solo (Zhu; Li; Whelan, 2018).

O legacy P é o excedente de P aplicado no solo por meio de fertilizantes ao longo dos anos, no qual se acumula e embora presente no sistema solo-planta, não são prontamente acessíveis às culturas agrícolas, ficando em formas pouco disponíveis (Pavinato et al., 2020, 2024; Zhu; Li; Whelan, 2018). O cálculo do acúmulo de P no solo pode ser realizado pela diferença entre as entradas e saídas do nutriente. As entradas de P ocorrem principalmente por meio da aplicação de fertilizantes, deposição atmosférica e intemperismo de minerais. Por sua vez as saídas de P acontecem por escoamento superficial, fluxo subsuperficial e pela absorção pelas culturas (Zhu; Li; Whelan, 2018).

No Brasil, entre os anos de 1967 e 2016, a aplicação contínua de fertilizantes minerais e orgânicos resultou no acúmulo de aproximadamente 33,4 milhões de toneladas de P em solos agrícolas. Atualmente, a taxa de excedente anual é estimada em 1,6 milhões de toneladas. E caso esse ritmo se mantenha, projeta-se que o estoque de P alcance 16 milhão de toneladas até o ano de 2050, o que representaria um custo acumulado estimado em 70 bilhões de dólares. Em áreas cultivadas com soja e milho geralmente têm acúmulo de *legacy* de P entre 200 e 400 kg ha<sup>-1</sup> (Pavinato et al., 2020).

#### 2.4.1 Fluxo do P

O ciclo natural do P nos ecossistemas é altamente eficiente, em que a maior parte do fluxo dentro ocorre no solo, depois na biomassa microbiana e por último na biomassa vegetal. (Helfenstein et al., 2024). No solo os processos que envolvem esse fluxo fixação, dessorção e precipitação, além de mineralização e solubilização causados por microrganismos, sendo esses processos responsáveis por movimentar da ordem de 10 a 10<sup>5</sup> g P m<sup>-2</sup> ano<sup>-1</sup> (Helfenstein et al., 2024). Sendo o estoque de P nos primeiros 50 cm de solo em torno de 100 a 1000 g m<sup>-2</sup> de P, e sendo que solos altamente intemperizados podem conter menos de 100 g m<sup>-2</sup> de P. (Yang et al., 2013).

Na biomassa microbiana, embora haja grande variabilidade, o estoque médio é de 12 g m<sup>-2</sup> de P em áreas agrícolas. Já a biomassa vegetal apresenta valores geralmente inferiores a 10 g m<sup>-2</sup> na maioria dos ecossistemas. Em culturas como milho e soja, no estágio de maturação, o conteúdo de P é de cerca de 2,1 g m<sup>-2</sup> de P e g

$\text{m}^{-2}$  de P, respectivamente (Bender et al., 2013; Bender; Haegele; Below, 2015). Esses dados evidenciam a relevância dos microrganismos no ciclo do P, uma vez que o tamanho dos compartimentos microbianos de P, aliado às suas taxas de renovação de P no solo são mais rápidas em comparação às plantas, destaca seu papel fundamental na dinâmica do nutriente (Helfenstein et al., 2024).

As entradas naturais de P no sistema solo-planta variam de  $<0,001$  a  $0,05 \text{ g m}^{-2}$  de P/ano na maioria dos ambientes, isso ocorre tanto por intemperismos de rochas e deposição atmosférica. A aplicação de fertilizantes em solos agrícolas geralmente varia de  $1$  a  $5 \text{ g P g m}^{-1}$  de P/ano, demonstrando ser maior que as entradas naturais. Os fluxos anuais do solo para as plantas variam de  $0,8$ – $1,8 \text{ g m}^{-2}$  de P/ ano (Helfenstein et al., 2024).

#### 2.4.2 Importância do fósforo na agricultura

O P é um nutriente de elevada importância para o desenvolvimento e crescimento das plantas. Seu acúmulo médio na massa seca das plantas é de cerca de  $0,1$  e  $0,4\%$ , desempenhando um papel fundamental em vários processos fisiológicos e bioquímicos, como a síntese de DNA, componentes da membrana celular (fosfolipídios), e a produção de trifosfato de adenosina (ATP). Além disso, o P participa de processos essenciais para a planta, como respiração, fotossíntese, fixação biológica de nitrogênio, floração, frutificação e maturação (Mwende Muindi, 2019; Pang et al., 2024; Zhu; Li; Whelan, 2018).

Dentre os macronutrientes mais limitante para o crescimento das plantas o P é o segundo mais frequentemente relatado (Ahmad et al., 2018; Billah et al., 2019). A deficiência de P provoca diversos sintomas nas plantas e, por ser um nutriente móvel no floema, os primeiros sinais geralmente são observados nas folhas mais velhas, que adquirem uma coloração verde-escura a azulada. Em estágios mais severos, as folhas podem apresentar pigmentação arroxeadas devido ao acúmulo de antocianinas. Além disso, o déficit de P pode ocasionar atraso na maturação, na emissão de novas folhas, crescimento atrofiado, bem como desenvolvimento deficiente de frutos e sementes (Billah et al., 2019; Mishra et al., 2024; Mwende Muindi, 2019).

Após o esgotamento da reserva de P na semente, a planta começa a depender das raízes para realizar a absorção desse nutriente, sendo um momento

crucial para o desenvolvimento inicial da cultura. Nessa fase, o solo geralmente está bem suprido, devido à aplicação recente de fertilizantes e à baixa competição radicular. Com o avanço do ciclo, entretanto, a taxa de crescimento da planta tende a diminuir, em razão do maior sombreamento entre as linhas, da senescência dos tecidos mais velhos e do aumento dos gastos respiratórios. Mesmo havendo disponibilidade de nutrientes no solo, as plantas também recorrem à redistribuição interna do P, reutilizando o fósforo armazenado nos tecidos senescentes para sustentar o crescimento e a produção de estruturas reprodutivas (Veneklaas et al., 2012).

O P é absorvido pela soja em maior quantidade é entre os estágios V4 e R6, tendo uma absorção de aproximadamente 0,2 a 0,4 kg ha<sup>-1</sup>, e após o R1 é quando ocorre 60% dessa absorção. (Rezende et al., 2005). Durante o período reprodutivo, essa redistribuição interna se torna ainda mais importante. Como o crescimento das raízes desacelera com a idade da planta e o P no solo se torna mais escasso, a principal fonte de fósforo para os grãos passa a ser o próprio P remobilizado das partes vegetativas (Veneklaas et al., 2012).

A quantidade de fósforo disponível no solo para as plantas depende de vários fatores, como o pH, compactação, aeração, umidade, temperatura, textura e o teor de matéria orgânica, resíduos de culturas, extensão dos sistemas radiculares das plantas e secreções de exsudatos radiculares e microrganismos do solo (Jeyanthi; Kanimozhi, 2018).

## 2.5 ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A EFICIÊNCIA NO USO DO FÓSFORO

Os solos tropicais brasileiros são em sua maioria altamente intemperizados, apresentando baixas concentrações de P disponível às plantas (Gatiboni; Condron, 2021). Essas baixas concentrações, associadas com a elevada demanda desse nutriente pelas culturas, faz com que sejam aplicadas altas doses de fertilizantes fosfatados (Lynch, 2019; Roy et al., 2016).

Para melhorar essa eficiência no uso de fertilizantes deve-se melhorar tanto sua eficiência na aquisição de P, como eficiência interna do seu uso pela planta. Tendo em vista que as culturas agrícolas têm maior concentração de P nos tecidos do que as plantas não domesticadas. (Veneklaas et al., 2012).

O uso de fertilizantes fosfatados nos últimos 20 anos vem tendo um crescimento de 5,5% ao ano no Brasil (Withers et al., 2018). Por ser um país com baixa disponibilidade de matéria-prima para a fabricação desses fertilizantes, o Brasil apresenta alta taxa de dependência externa, o que se reflete nos índices de importação: em 2020, cerca de 72% do  $P_2O_5$  utilizado no país foi importado, evidenciando uma tendência crescente em relação à dependência, já que em 2000 esse valor era de apenas 44% (ANDA, 2017; Brasil, 2022). Esse cenário torna cada vez mais necessária a busca por alternativas que aumentem a eficiência do uso do fósforo presente no solo.

### 2.5.1 Manejo do solo e aplicação

Uma das principais estratégias para aumentar a eficiência no uso do fósforo é o adequado manejo do solo, uma vez que a limitação do fósforo na agricultura brasileira está diretamente relacionada às características dos solos que são altamente intemperizados. Esses solos apresentam elevada capacidade de fixação de fósforo, baixo teor de matéria orgânica e, geralmente, ácidos, fatores que reduzem significativamente a disponibilidade do nutriente para as plantas (Camargo et al., 2010; Novais; Smyth, 1999).

A utilização de calagem provoca aumento na eficiência de uso de P em solos tropicais em até 80%. Isso ocorre devido às suas características que aumentam as hidroxilas ( $OH^-$ ) na solução do solo, neutralizando assim grupos funcionais protonados capazes de fixar o ânion fosfato e, com isso e ocasionando o aumento na disponibilidade de P (Pavinato et al., 2020; Zhu; Li; Whelan, 2018).

A compactação do solo é um dos principais limitantes da absorção do P, uma vez que, essa condição limita o espaço disponível para o crescimento radicular e área explorada de solo pelas raízes as camadas mais profundas, restringindo a absorção de nutrientes e água (Matté et al., 2021).

A comunidade microbiana do solo também é importante para aumentar a eficiência absorção de nutrientes. A planta o solo e a sua microbiota relacionam-se e influenciam vários processos benéficos tanto para sanidade quanto a produtividade das plantas (Ahmad et al., 2018). Uma vez que a rizosfera é o ambiente do solo sob influência das raízes, é uma zona de atividade microbiana intensa, em que a planta consegue acessar e absorver os nutrientes para seu crescimento (Vejan et al., 2016a).

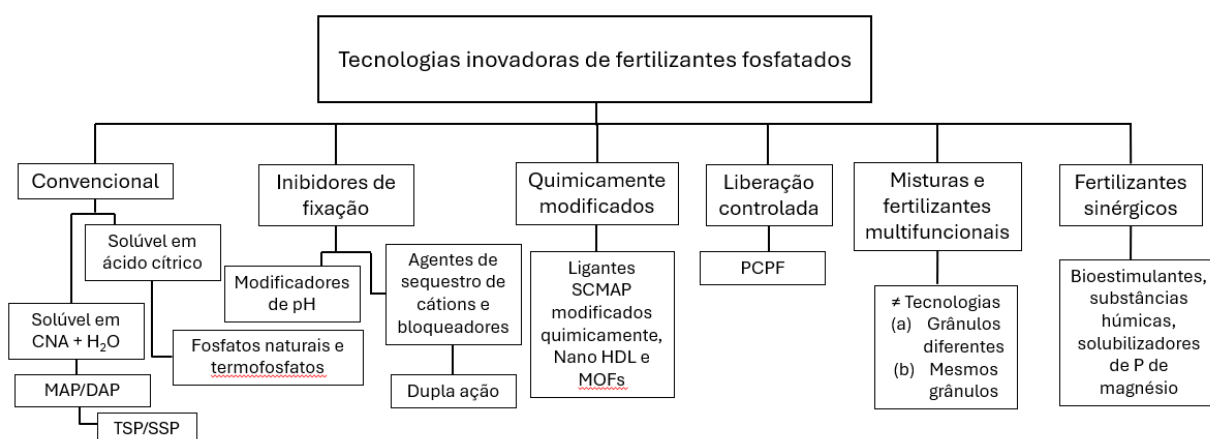
### 2.5.2 Eficiência de fertilizantes fosfatados

A eficiência dos adubos fosfatados pode ser influenciada por vários fatores, entre eles as fontes de fosfato, propriedades do solo, modos de aplicação e espécies vegetais (Corrêa; Mauad; Rosolem, 2004). As fontes minerais de P mais utilizadas são: o fosfato monoamônico (MAP), composto por 10% de nitrogênio (N) e de 46 a 50% de  $P_2O_5$ ; o fosfato diamônico (DAP), com 16% de N e entre 38 a 40% de  $P_2O_5$ ; o superfosfato simples, que contém de 16 a 18% de  $P_2O_5$  e de 18 a 20% de cálcio (Ca); o superfosfato triplo, com 41% de  $P_2O_5$  e de 7 a 12% de Ca; e o termofosfato, que apresenta 18% de  $P_2O_5$ , 9% de magnésio (Mg), 20% de Ca e 25% de silicato ( $SiO_4$ ). (Santiago; Rossetto, 2022)

Fontes minerais de P como superfosfato triplo (TSP) e o termofosfato de magnésio (MTP) têm maior solubilidade e melhor desempenho quando comparado com fontes de menor solubilidade como o fosfato de rocha. (Galletto et al., 2014). Segundo Giroto et al., (2017) o uso de fertilizantes de liberação lenta é uma estratégia para melhorar a utilização do macronutriente, uma vez que esses fertilizantes liberram nutrientes em maior conformidade com as necessidades das plantas.

O uso de aditivos minerais aos fertilizantes fosfatados aliado a associação de fontes orgânicas, contribui para elevar a eficiência desses insumos. Além disso, para aumentar essa otimização dos fertilizantes, o uso de compostos de revestimento com ação de liberação lenta ou controlada dos nutrientes está se destacando para aumentar sua eficiência. (Benites, 2015; Ribeiro et al., 2021; Souza; Rocha, 2021)

Os fertilizantes fosfatados podem ser classificados em categorias ou grupos dependendo da tecnologia empregada no seu processo de produção, podendo ser: (1) fertilizantes convencionais, (2) fertilizantes inibidores de fixação, (3) fertilizantes quimicamente modificados, (4) fertilizantes de liberação controlada, (5) misturas e fertilizantes multifuncionais e (6) fertilizantes sinérgicos. (Guelfi et al., 2022).

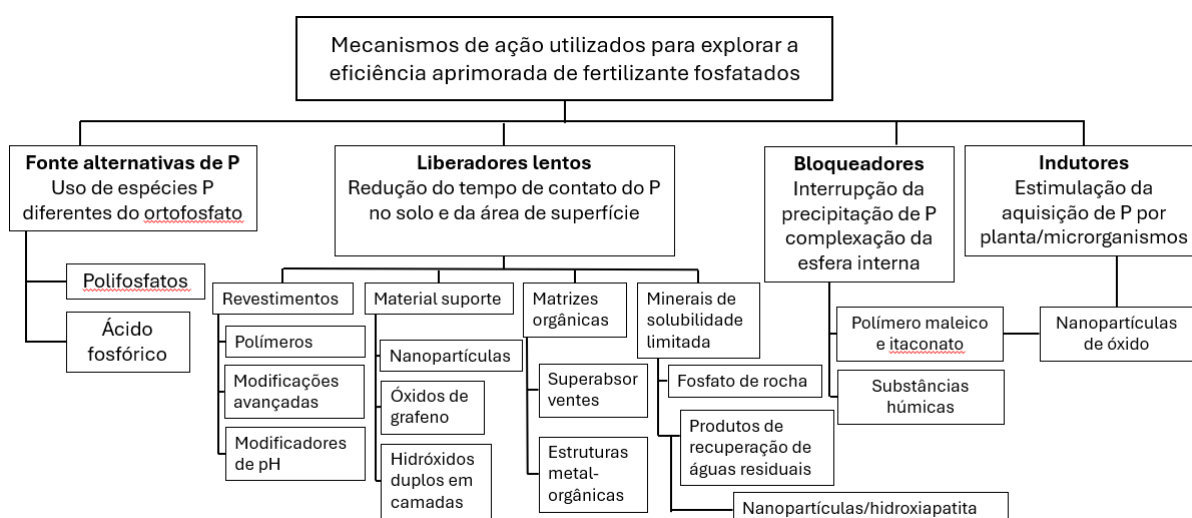


**Figura 1.** Classificação dos fertilizantes fosfatados.

CNA + H<sub>2</sub>O: citrato de amônio neutro + água; MAP: fosfato monoamônico; DAP: fosfato diamônico; TSP: superfosfato triplo; SSP: superfosfato simples; SCMAP: MAP revestido com enxofre; HDL: hidróxidos duplos lamelares; Nano: nanopartículas; MOFs: estruturas metal-orgânicas; PCPF: fertilizantes fosfatados revestidos com polímero.

**Fonte:** Baseado em Guelfi et al., (2022).

De acordo com WEEKS; HETTIARACHCHI, 2019 esses fertilizantes fosfatados podem ser divididos de acordo com seu mecanismo de ação.



**Figura 2.** Mecanismos de ação de fertilizantes fosfatados eficientes

**Fonte:** Baseado em Weeks; Hettiarachchi (2019).

### 2.5.3 Melhoramento genético

Ao longo do tempo as plantas desenvolveram várias estratégias adaptativas para aumentar a eficiência de aquisição de Pi no solo, a absorção e o transporte, além da eficiência de uso de P em condições de deficiência. (Wang et al., 2018). Nesse contexto, para que as culturas apresentem maior eficiência no uso do fósforo e mantenham altos rendimentos mesmo sob baixa disponibilidade de P, o melhoramento genético desponta como uma ferramenta essencial, permitindo o desenvolvimento de genótipos mais eficientes na absorção e uso (Gao et al., 2023).

Identificar os vários mecanismos tanto fisiológicos como moleculares envolvidos na absorção de P, seu transporte e armazenamento nas plantas, e suas vias genéticas que aumentam sua eficiência da utilização de Pi, é importante para que se tenha uma maior eficiência no uso do P pelas plantas (Dissanayaka et al., 2021; Gojon; Nacry; Davidian, 2009). Diversas abordagens têm sido desenvolvidas com o objetivo de aumentar a eficiência do uso do fósforo (PUE) na agricultura. Entre essas estratégias, destaca-se o desenvolvimento de cultivares com maior capacidade de absorção, transporte e uso de P (Lambers, 2022; Pavinato et al., 2024).

A PUE pode ser incrementada por meio de dois mecanismos principais: a eficiência de aquisição de P (PUpE) que se refere à capacidade das plantas de absorver P do solo e/ou a eficiência de uso de P (PUtE) relacionada à capacidade de empregar o P absorvido para gerar biomassa ou rendimento (Han; White; Cheng, 2022). Aumento da PUpE pode ser alcançada por meio de modificações do sistema radicular, com maior densidade no solo, emissão de raízes laterais e pelos radiculares; exsudação de compostos rizosféricos, com ácidos orgânicos e enzimas fosfatases; e da associação com microrganismos promotores de crescimento e solubilizadores de fosfato. Por sua vez, a PUtE está associada à redistribuição eficiente do P dentro da planta, priorizando órgãos em crescimento; ao aumento da reciclagem intracelular, por meio da degradação de RNA e fosfolipídios; e à redução do acúmulo de P em formas pouco aproveitáveis, como o fitato nas sementes (Han; White; Cheng, 2022; Madison et al., 2023; Ojeda-Rivera et al., 2022).

Os programas de melhoramento genético enfrentam um *trade-off* entre tolerância à baixa disponibilidade de P e eficiência no uso do nutriente (Fageria; Da Costa, 2000; Jha et al., 2023; Van de Wiel; Van der Linden; Scholten, 2016). Genótipos tolerantes a baixos níveis de P frequentemente apresentam maior PUpE. No entanto,

essa tolerância nem sempre se traduz em elevada PUE, uma vez que a conversão do P absorvido em biomassa ou grãos envolve mecanismos fisiológicos e genéticos distintos (Madison et al., 2023). Nesse contexto, a aplicação de índices de resposta ao P pode ser considerado uma estratégia para a seleção de genótipos sob condições contrastantes de disponibilidade do nutriente.

Alguns autores descreveram alguns genes já identificados como, GmACP1 (ZHANG et al., 2014), GmACP2 (Zhang et al., 2017), GmETO1 (Zhang et al., 2020) GmSPX-RING1 (Du et al., 2020), GmPHF1 (Guo et al., 2022) e GmGDPD2 (Hu et al., 2024). Há diversos genes já descobertos, mas é necessário que se identifique ainda mais para ter uma melhor compreensão desses mecanismos relacionados à eficiência do uso do Pi (Li; Zeng; Liao, 2016).

## 2.6 ESTRATÉGIAS DE SOLUBILIZAÇÃO E MINERALIZAÇÃO DE P POR MICRORGANISMOS

Microrganismos do solo auxiliam na conversão das formas indisponíveis de P em formas assimiláveis por meio de dois mecanismos principais, sendo eles solubilização de Pi e mineralização de Po, ou pelo aumento do sistema radicular das plantas para o incremento da área de captação de nutrientes (Richardson; Simpson, 2011)

Entre os microrganismos do solo, bactérias conhecidas como rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (PGPR) são as mais promissoras, pois aumentam a eficiência de aquisição de P pelas raízes, devido à produção de ácido Indolacético (AIA) que desempenha um papel importante no desenvolvimento radicular, especialmente na formação de pelos radiculares e raízes laterais, melhorando a absorção de nutrientes (Massucato et al., 2022; Mosela et al., 2022; Vejan et al., 2016b).

É comum que a comunidade bacteriana na rizosfera seja de 100 a 1000 vezes maior que no solo adjacente, graças à versatilidade dessas bactérias utilizar e se adaptar aos exsudatos radiculares. (Goswami; Thakker; Dhandhukia, 2016). As plantas produzem exsudatos radiculares, compostos por aminoácidos, açúcares, proteínas ácidos orgânicos, polissacarídeos e fenólicos para nutrir as PGPR e atuar como sinalizadores tanto para atrair como repelir os microrganismos (Huang et al., 2021).

O emprego de PGPR como inoculantes biológicos, é uma das alternativas para uma produção mais sustentável, sendo essa uma tecnologia com elevado potencial para ganhos em produtividade dos sistemas agrícolas (Guimarães; Klein; Klein, 2023). A eficiência da inoculação bacteriana pode variar dependendo do genótipo da planta, estágio de desenvolvimento, cepa bacteriana e condições ambientais, o que influencia a colonização e a interação com a planta (Massucato et al., 2022).

Diversos microrganismos têm sido relatados com capacidade de solubilizar fosfato e atuar como promotores de crescimento, sendo amplamente estudados quanto à sua eficiência nesses processos. Destacam-se espécies pertencentes aos gêneros *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Aspergillus* e *Penicillium*, (Goswami; Thakker; Dhandhukia, 2016; Jeyanthi; Kanimozhi, 2018; Richardson; Simpson, 2011)

#### 2.6.1 Solubilização de fosfatos

Os microrganismos presentes no solo ou inoculados via semente ou sulco de semeadura favorecem a solubilização de fosfatos, por diversos mecanismos, sendo eles por meio de interações químicas e biológicas complexas, sendo esses processos mediados principalmente pelas raízes das plantas e pela atividade de microrganismos do solo (Guimarães; Klein; Klein, 2023; Mosela et al., 2022; Silva et al., 2023; Zhu; Li; Whelan, 2018). Um dos principais mecanismos utilizados por esses microrganismos é a secreção de diferentes ácidos orgânicos como os ácidos cítrico, oxálico, láctico e glucônico, ácido tartárico, ácido aspártico. Esses ácidos são o produto do metabolismo microbiano primário, principalmente pela respiração oxidativa ou pela fermentação de fontes de carbono orgânico (Backer et al., 2018; Kaur; Gera, 2016; Richardson; Simpson, 2011; Sharma et al., 2013)

Os ácidos orgânicos desempenham papel fundamental na solubilização de fosfatos no solo, como pela redução do pH da rizosfera, formando complexos com cátions ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Al}^{3+}$ ), o que promove a liberação do fósforo para formas disponíveis às plantas. Além disso, contribuem para o aumento da quelação dos cátions ligados ao P, e competem com o P por sítios de fixação no solo, e participam

da formação de complexos solúveis com íons metálicos associados ao P insolúvel ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Al}^{3+}$ ) (Sharma et al., 2013).

Além da secreção de ácidos orgânicos alguns MSPs contribuem para a solubilização de fosfato por via da excreção de prótons e da secreção de enzimas como fitases e fosfatases, tanto ácidas quanto alcalinas, que atuam na degradação de compostos orgânicos fosfatados (Richardson; Simpson, 2011). A produção de sideróforos também é outro mecanismo que esses microrganismos utilizam para solubilização de fosfatados, tendo em vista que são compostos quelantes de ferro de alta afinidade e promovem a solubilização de complexos de Fe-P, liberando P (Cheng et al., 2023; De Zutter et al., 2022; Pan; Cai, 2023; Sharma et al., 2013; Silva et al., 2023).

Exopolissacarídeos são polímeros que geralmente são secretados por microrganismos que formam biofilmes. Eles são capazes de complexar íons metálicos como Fe, Al, Ca no solo, competindo com o P e tornando-o disponível para as plantas. A produção de  $\text{H}_2\text{S}$  (sulfeto de hidrogênio) também ajuda na solubilização de P, pois interage com minerais contendo fosfato, como o fosfato férrico, resultando na formação de sulfato ferroso e na liberação do P imobilizado. No entanto, sua contribuição pode ser limitada em alguns ambientes, como os aeróbicos (Cheng et al., 2023; De Zutter et al., 2022; Pan; Cai, 2023; Sharma et al., 2013; Silva et al., 2023). A oxidação direta da glicose é outro mecanismo, uma vez que algumas bactérias têm a capacidade de oxidar a glicose no espaço periplasmático pela enzima glicose desidrogenase (GDH), gerando ácido glucônico, que acidifica o meio e quelata íons férricos, liberando P (Cheng et al., 2023; Pan; Cai, 2023; Silva et al., 2023).

Tanto as plantas como as bactérias se beneficiam dessa associação, na qual os microrganismos que residem na rizosfera utilizam açúcares dos exsudatos das raízes e os metabolizam para produzir ácidos orgânicos (Goswami et al., 2014)

### 2.6.2 Mineralização

A mineralização é um processo essencial para a disponibilização do P às plantas, uma vez que até 80% do P total do solo encontra-se em formas orgânicas inativas (Cheng et al., 2023). Nesse processo, o Po presente no solo, geralmente em formas complexas e de baixa solubilidade, como fosfato tricálcico, fosfato de rocha e fosfato de alumínio, é convertido em  $\text{P}_i$ , principalmente na forma de ortofosfatos, que

podem ser facilmente assimilados pelas plantas. Esses microrganismos empregam principalmente enzimas para a mineralização do Po (De Zutter et al., 2021, 2022; Goswami; Thakker; Dhandhukia, 2016; Silva et al., 2023).

Entre as enzimas responsáveis pela mineralização as fosfatases são responsáveis por aproximadamente 90% da mineralização do Po, e dependendo do pH ótimo para sua atividade, podem ser classificadas em ácidas ou alcalinas. Essas enzimas clivam ligações fosfoéster ou fosfoanidrido em compostos orgânicos, liberando ortofosfato (Cheng et al., 2023; Pan; Cai, 2023). As Fosfatases ácidas que são originadas de plantas e microrganismos são responsáveis por cerca de 80% da decomposição do P inorgânico e elas hidrolisam grupos fosfato de diversos substratos orgânicos como ácido 3-fosfoglicérico e hexose fosfato. Por sua vez as alcalinas que são originadas de bactérias hidrolisam quase todos os fosfomonoésteres, como fosfolipídios e ATP, liberando Pi (Cheng et al., 2023; De Zutter et al., 2021; Pan; Cai, 2023; Sharma et al., 2013).

Outro grupo importante de enzimas são as fitases, que atuam na mineralização do fitato, que constitui uma das principais reservas de Po no solo, hidrolisando o ácido fítico (mio-inositol hexafosfato), agindo nas ligações fosfomonoéster presentes no composto, liberando P e outros nutrientes como zinco e ferro. As enzimas C-P Liases e Fosfonatases clivam ligações carbono-fósforo (C-P) em organofosfonatos (Cheng et al., 2023; De Zutter et al., 2022; Pan; Cai, 2023; Sharma et al., 2013; Silva et al., 2023).

Além da atuação das enzimas, outros mecanismos fisiológicos indiretos também contribuem para a mineralização do P. Um exemplo é a liberação de prótons ( $H^+$ ), resultante do metabolismo do amônio ( $NH_4^+$ ) nos microrganismos. Esse processo gera um excesso de prótons que são liberados no solo, promovendo a acidificação da rizosfera e, conseqüentemente, favorecendo a dissolução do P anteriormente imobilizado em complexos com metais (Silva et al., 2023).

## 2.7 GÊNERO *BACILLUS* SPP.

Os membros do gênero *Bacillus* são bactérias Gram-positivas aeróbicas ou anaeróbicas facultativas. (Fritz et al., 2010; Tsoetsi et al., 2022a). Esse gênero possui a capacidade de produzir endósporos, o que permite a sobrevivência em ambientes

desfavoráveis, mesmo com extremos de pH, temperatura, entre outros (Etesami; Jeong; Glick, 2023; Loreto; Da Silva; Machado, 2024).

Essas bactérias têm ocorrência global e são um dos gêneros mais abundantes no solo, é encontrada também em grãos armazenados, insetos mortos entre outros ambientes (Arnaouteli et al., 2021; Etesami; Jeong; Glick, 2023; Miljaković; Marinković; Balešević-Tubić, 2020; Monnerat et al., 2020). Os *Bacillus* têm a capacidade de produzir diversas enzimas, antibióticos e metabólitos com aplicações em vários setores, como na indústria farmacêutica e na agricultura (Belbahri et al., 2017; Tsotetsi et al., 2022b).

Além de possuir alta capacidade de colonização do ambiente rizosférico esse gênero é reconhecido como um importante PGPR, atuando por mecanismos diretos e indiretos. Os mecanismos diretos são: produção de sideróforos; fixação biológica de nitrogênio; produção de fitormônios (AIA, citocininas, giberilinas) e solubilização de nutrientes. Os mecanismos indiretos são: produção de exopolissacarídeos (EPS); formação de biofilme; enzimas líticas que promovem o crescimento da planta; supressão de microrganismos deletérios da rizosfera por meio de antibiose e controle de patógenos (Huang et al., 2021; Khan et al., 2022; Vejan et al., 2016a).

Öğüt; Er; Neumann (2011) observaram que a inoculação de milho com *Bacillus* sp. 189 promoveu um aumento significativo na extrusão de prótons ( $H^+$ ), resultando na acidificação da solução nutritiva suplementada com amônio ( $NH_4^+$ ). Essa acidificação favoreceu a dessorção e a mineralização do P, elevando a concentração de P disponível para 8,0 mg/kg no tratamento inoculado, em comparação aos 6,3 mg/kg observados no controle, evidenciando o papel dos microrganismos promotores de crescimento na melhoria da disponibilidade de P.

Mosela et al., (2022) identificaram que o *Bacillus velezensis* (Ag75), se destacou por seu potencial multifuncional na solubilização de fosfato e na melhoria da absorção e utilização de P pelas culturas de milho e soja. Foi identificado que seu genoma abriga 11 genes relacionados à atividade de fosfatases e fitases. Em experimentos conduzidos em casa de vegetação, os autores identificaram que a inoculação dessa cepa promoveu um aumento de 35% no teor de P na parte aérea do milho em comparação ao controle, além de elevar em 42% a eficiência de aquisição de P (PUPE) em condições com aplicação de 25 kg ha de  $P_2O_5$ . A cepa também se destacou por proporcionar maiores valores de eficiência de uso de P (PUE), com incrementos de 19% para a soja e ganhos expressivos para o milho.

## 2.8 GÊNERO *PSEUDOMONAS* SP.

As bactérias do gênero *Pseudomonas* são microrganismos Gram-negativos, com mais de 327 espécies descritas, amplamente distribuídas em ambientes naturais, sendo frequentemente encontradas no solo e na água (Ruiz-Hernandez; Madrigal-Perez; González-Hernández, 2024). Sua ampla ocorrência demonstra sua grande capacidade de adaptação em diversos ambientes devido à sua diversidade fisiológica, ambiental e molecular (Sun; Shahrajabian; Soleymani, 2024). Espécies do gênero *Pseudomonas* têm sido usadas principalmente como inoculante em culturas devido à sua ocorrência abundante e capacidade metabólica versátil, que promovem o crescimento das plantas de diversas maneiras (Mehmood et al., 2023).

Entre os mecanismos utilizados pelas espécies de *Pseudomonas* para beneficiar o crescimento das plantas estão, a produção de sideróforos, AIA, atividade da ACC deaminase, solubilização de fosfatos, o que ocorre pela liberação de ácidos orgânicos como exemplo o glucônico, biocontrole, produção de cianeto de hidrogênio, síntese de enzimas líticas como quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases, estimulação da proteção das plantas desencadeando resistência sistêmica, competição por nutrientes e espaço com microrganismos maléficos (Gutierrez-Albanchez et al., 2021; Mehmood et al., 2023; Singh et al., 2022; Sun; Shahrajabian; Soleymani, 2024).

Cepas específicas de *Pseudomonas fluorescens* têm sido usadas como inoculantes de sementes, em diversas plantas cultivadas, visando estimular o crescimento e aumentar a produtividade (Mehmood et al., 2023). No entanto, é importante notar que algumas espécies, como a *P. aeruginosa*, podem ser patogênicas (Ruiz-Hernandez; Madrigal-Perez; González-Hernández, 2024).

Guimarães; Klein, (2021) verificaram que a inoculação de soja com *P. fluorescens* (cepa ATCC 13525), associada com *Bradyrhizobium japonicum*, e utilizando apenas 50% da dose recomendada de fertilizante fosfatado, demonstrou que potencializa a solubilização e a absorção de P pela cultura, favorecendo um melhor desenvolvimento vegetativo e resultando em maiores teores de P nas folhas e nos grãos. Além disso, resultou em produtividade de grãos equivalente ou superior àquela obtida com a adubação fosfatada completa.

## 2.9 CONSÓRCIOS MICROBIANOS

o uso conjunto de duas ou mais espécies de microrganismos benéficos, como bactérias e fungos, vem sendo cada vez mais utilizada na agricultura, e tem se tornado uma prática cada vez mais adota. A combinação pode potencializar os efeitos positivos sobre o desenvolvimento das plantas, superando os benefícios que seriam obtidos com a aplicação de apenas um microrganismo isoladamente (Kong; Hart; Liu, 2018; Molina-Romero et al., 2017; Olanrewaju; Babalola, 2019; Ramírez; Rivillas; Posada, 2019). Como consequência, essa interação conjunta, que pode ser sinérgica ou aditiva, contribui para a redução da necessidade de fertilizantes minerais, mantendo ou até mesmo aumentando o rendimento das culturas (Molina-Romero et al., 2017; Ramírez; Rivillas; Posada, 2019).

Para maximizar os efeitos do consórcio microbiano, é essencial que os microrganismos envolvidos sejam compatíveis e possuam capacidade de colonização do sistema radicular e da rizosfera. A eficácia do consórcio pode variar consideravelmente em função de diversos fatores, as cepas microbianas envolvidas, a espécie ou cultivar da cultura e as condições ambientais (Molina-Romero et al., 2017; Ramírez-Esparza et al., 2024; Rojas-Solis; Hernandez-Pacheco; Santoyo, 2016; Vannini et al., 2021).

O consórcio entre microrganismos pode proporcionar maior crescimento vegetal por meio da atuação conjunta de diferentes mecanismos de promoção do desenvolvimento. Essa interação benéfica reflete-se em diversos atributos agrônômicos, como no número de folhas, massa seca da parte aérea e das raízes, incremento no diâmetro do caule e melhor desenvolvimento das plântulas. No caso da soja, o consórcio pode resultar em um maior nodulação e melhoria da saúde geral das plantas, devido à soma de funções desempenhadas pelos microrganismos, incluindo a produção de sideróforos, a solubilização de fosfato, a fixação biológica de nitrogênio e a atividade de biocontrole de patógenos, (Molina-Romero et al., 2017; Nakatani et al., 2024; Olanrewaju; Babalola, 2019; Ramírez; Rivillas; Posada, 2019; Rojas-Solis; Hernandez-Pacheco; Santoyo, 2016; Sandini et al., 2024)

Olanrewaju; Babalola, (2019) verificaram que as estirpes de *B. subtilis* e *Pseudomonas* sp. demonstraram diversas atividades promotoras de crescimento vegetal, como a produção de IAA, solubilização de fosfatos, produção de sideróforos,

e atividades de biocontrole. Tanto a inoculação única quanto em consórcio dessas bactérias melhorou o crescimento do milho em condições de campo.

Nakatani et al., (2024) constataram que o consorcio de *A. brasilense* (Ab-V5 e Ab-V6) e *P. fluorescens* CCT8122, na cultura da soja mesmo com redução de 25% da adubação fosfatada, resultou em maior nodulação, maior massa de raiz e de parte aérea, assim como maiores teores de P na parte aérea e grãos, além do aumento na produtividade média de 12,4% com consorcio em comparação ao controle.

Esses trabalhos evidenciam o elevado potencial biotecnológico associado ao estudo e à aplicação de consórcios microbianos envolvendo espécies dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*. A complementaridade funcional desses microrganismos, aliada à sua capacidade de adaptação e colonização da rizosfera, reforça sua relevância como ferramentas promissoras para o desenvolvimento de tecnologias agrícolas mais sustentáveis.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 BIOPROSPECÇÃO

Para obtenção da coleção de microrganismos foram conduzidas bioprospecções a partir de material vegetal obtido de regiões rurais nos estados do Paraná e Mato Grosso do Sul entre os anos de 2023 e 2025. Raízes de soja foram coletadas e acondicionadas sob refrigeração até o processamento. O solo rizosférico aderido às raízes foi suspenso em solução salina estéril (NaCl 0,85% m/v), diluído serialmente e plaqueado em ágar LB (isolamento de *Bacillus*) e B King (isolamento de *Pseudomonas*), incubados durante 2-5 dias a 30 °C. As colônias microbianas foram selecionadas a partir de características morfológicas discriminatórias (morfologia colonial para *Bacillus*, fluorescência para *Pseudomonas*, diferenciação por meio de coloração de Gram), isoladas e criopreservadas em meio de TSB (*Pseudomonas*) ou LB (*Bacillus*) suplementado com 40% (v/v) de glicerol, sob -80 °C. Todos os microrganismos foram depositados na coleção de trabalho de microrganismos da empresa BIOINPUT (Cambé, Paraná, Brasil).

#### 3.2 CARACTERIZAÇÃO *IN VITRO*

##### 3.2.1 Antagonismo contra fitopatógenos

A avaliação da capacidade inibitória dos isolados sobre fitopatógenos foi avaliada por meio da metodologia de *dual culture* (Basha; Ulaganathan, 2002). Os fungos fitopatogênicos *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum* foram ativados a partir de suspensões estoque (água glicerinada a 10% v/v, -80°C) em ágar batata dextrose (BDA) durante 5 dias a 28 °C e fotoperíodo (12:12 C:E) (*R. solani* e *M. phaseolina*) e 25 °C no escuro (*S. sclerotiorum*). Os isolados bacterianos foram ativados a partir dos estoques criopreservados overnight. Para realização do teste, foram inoculados equidistantemente a 1 cm de distância da borda da placa de Petri. Os fungos foram inoculados pelo posicionamento de plugs (8 mm) no centro da placa. Cada tratamento foi incubado de acordo com as condições de crescimento necessárias para cada fungo de três a quatro dias, com posterior

determinação de capacidade inibitória como ausente (-), ou presente sendo considerado como (+) quando não houve crescimento micelial sobre as colônias bacterianas e (++) quando houve formação de zonas de inibição ao redor das colônias.

### 3.2.2 Compatibilidade com cepas comerciais

A compatibilidade entre os isolados bioprospectados e importantes cepas constituintes de produtos comerciais foi avaliada por meio do método de cross-streak (LERTCANAWANICHAKUL; SAWANGNOP, 2008), com adaptações. As cepas *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5079) e *Azospirillum brasilense* (Ab-V5) foram os microrganismos-alvos para avaliação de compatibilidade. As bactérias *B. japonicum* e *A. brasilense* foram ativadas em ágar YMA e RC, respectivamente, durante 5 dias a 28 °C. As cepas comerciais foram então co-cultivadas com os isolados bioprospectados por meio de estriamento cruzado nos respectivos meios, com incubação durante 4 – 5 dias. A presença de zonas de inibição na interseção entre os microrganismos foi o parâmetro utilizado como indicativo de incompatibilidade.

### 3.2.3 Ensaio de solubilização em meio ágar

A capacidade de solubilização de fosfato e de silicato de potássio pelos isolados de *Pseudomonas* spp. foi avaliada pelo plaqueamento em ágar NBRIP (g/L: 10 g glicose; 5 g  $\text{Ca}_3[\text{PO}_4]_2$ ; 5 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,25 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,2 g KCl; 0,1 g  $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$ ; 15 ágar; pH 6,8) (NAUTIYAL, 1999; GOMES et al., 2014) e *Aleksandrov* (g/L: 5 g glicose; 2 g  $\text{Ca}_3[\text{PO}_4]_2$ ; 2 g silicato de potássio; 0,5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 g  $\text{CaCO}_3$ ; 0,005 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 g azul de bromotimol; 15 g ágar, pH =  $7,2 \pm 0,2$ ) (Hu; Chen; Guo, 2006; RAJAWAT et al., 2016), respectivamente. Para ambas as avaliações os microrganismos foram inoculados circularmente a partir de cultivos overnight e incubados a 28 °C durante 5 (potássio) e 7 dias (fosfato). A formação de halos translúcidos aos arredores das colônias (++) , bem como a translucidez na área imediata abaixo da colônia (+) foram consideradas como indicativos da capacidade de solubilização.

### 3.2.4 Quantificação de ácido indolacético (AIA)

Os isolados de *Bacillus* spp. e de *Pseudomonas* spp. foram avaliados quanto à capacidade de biossíntese do fitormônio ácido indolacético (AIA) por meio de cultivo em frascos Erlenmeyers de 125 mL contendo 40 mL de caldo TSB suplementado com 1 g/L L-triptofano. Os cultivos foram inoculados com duas colônias cultivadas overnight e incubados durante 5 dias a 30 °C e 100 rpm de agitação, no escuro. Os cultivos foram centrifugados durante 10 minutos a 5500 rpm e temperatura ambiente. O sobrenadante foi misturado ao reagente de Salkowski na proporção 1:1 mL (v/v) e a reação foi incubada na ausência de luz por 20 minutos. Posteriormente, aferiu-se a absorbância da mistura em espectrofotômetro, utilizando  $\lambda = 540$  nm (De Sousa et al., 2021) com contrastes dos valores com curva padrão de concentração de AIA previamente estabelecida.

### 3.3 BIOPROCESSOS PARA OBTENÇÃO DE BIOMASSA MICROBIANA (INÓCULO)

A partir da caracterização do potencial de promoção de crescimento vegetal e solubilização de nutrientes *in vitro*, oito isolados de *Bacillus* e 20 *Pseudomonas* foram submetidos a triagens em casa de vegetação para avaliação do desempenho dos isolados na promoção de crescimento vegetal em ambiente controlado.

A produção de biomassa microbiana foi realizada por meio da ativação em cultivo overnight dos isolados em ágar LB. Para *Bacillus*, uma colônia foi utilizada para inoculação em caldo TSB suplementado com 10 g/L de glicose no volume de 50 mL em frascos Erlenmeyer aletados de 125 mL. Para *Pseudomonas* spp., os isolados foram ativados em 40 mL de caldo TSB contidos em frascos Erlenmeyers aletados de 125 mL. Os cultivos foram incubados por 48 h a 180 rpm e 28 °C. O crescimento microbiano foi avaliado por meio de aferição da DO600.

### 3.4 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO – CEPAS ISOLADAS

Oito cepas de *Bacillus* e 20 cepas de *Pseudomonas* foram avaliadas em experimento de casa de vegetação na Universidade Estadual de Londrina (UEL) (23°34'S, 51°21'W). Visando avaliar o potencial de promoção de crescimento na cultura do milho (*Bacillus* e *Pseudomonas*) e soja (*Pseudomonas*). Para esses experimentos foram utilizados o híbrido de milho SEMPRE 20A38 VIP 3 e a cultivar

de soja DM 66I68 RSF IPRO. O solo da região é caracterizado como um Nitossolo Vermelho Eutroférico (NVe), de textura argilosa.

**Tabela 1.** Caracterização química e granulométrica do solo e conteúdo de fósforo no solo utilizado nos experimentos com as culturas do milho e da soja (0–20 cm).

| Parâmetro                    | Unidade                   | Exp. I | Exp. II | Exp. III |
|------------------------------|---------------------------|--------|---------|----------|
| Fósforo disponível           | mg dm <sup>-3</sup>       | 20,10  | 15,5    | 14,8     |
| pH (CaCl <sub>2</sub> )      | —                         | 5,80   | 6,6     | 5,70     |
| Matéria orgânica             | g kg <sup>-1</sup>        | 1,00   | 9,8     | 11,3     |
| Cálcio (Ca <sup>2+</sup> )   | cmolc<br>dm <sup>-3</sup> | 2,55   | 3,00    | 2,20     |
| Magnésio (Mg <sup>2+</sup> ) | cmolc<br>dm <sup>-3</sup> | 0,66   | 0,50    | 0,80     |
| Potássio (K <sup>+</sup> )   | cmolc<br>dm <sup>-3</sup> | 0,32   | 0,22    | 0,19     |
| CTC                          | cmolc<br>dm <sup>-3</sup> | 5,50   | 5,80    | 5,40     |
| Saturação por bases (V)      | %                         | 64,20  | 64,3    | 58,00    |
| P remanescente               | mg L <sup>-1</sup>        | 47,92  | 33,69   | 29,11    |
| Argila                       | %                         | 21     | 19      | 19       |
| Areia                        | %                         | 73     | 71      | 71       |

Exp. I: *Bacillus* na cultura do milho; Exp. II: *Pseudomonas* na cultura do milho e soja; Exp. III: Consórcio na cultura do milho e da soja.

Fonte: Neosolo Agroanálises (Londrina–PR), laudos de análise de solo.

Esses tratamentos foram avaliados com a dose de 70% de P recomendado para cada cultura, com dois produtos comerciais como controle (+) sendo no experimento com as estirpes de *Bacillus* o Bioma Phos (BRM 119 *Priestia megaterium* e BRM 2084 *Bacillus subtilis*) e o CCT8089 (*Bacillus siamensis*). Para *Pseudomonas* foram utilizados os produtos Hober Phos (*Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525) e Biofree (*A. brasilense* Ab-V6 e *P. fluorescens* CCTB03). Além desses, tratamentos sem adição de produtos biológicos foram usados como controle (-) sendo com 70 e

100% da dose de P recomendada. A adubação correspondente a 100% e 70% foi realizada simulando como fosse conduzida no campo, com base na análise de solo do local e seguindo o manual de adubação do Paraná (Tabela 1).

Para avaliação as culturas de milho e soja, as sementes foram inoculadas com os isolados de *Bacillus* e *Pseudomonas* na dosagem de 100 mL/50 kg de sementes sendo que, na cultura da soja, foi adicionado *B. japonicum* (Semia 5079) e, posteriormente, foram semeados em vasos de 3.8 L com 1:1 (solo: areia). Os ensaios foram conduzidos até aproximadamente 45 dias após a semeadura.

O delineamento estatístico adotado foi o de bloco casualizado (DBC), com oito repetições e as características avaliadas foram: massa seca da parte aérea, massa seca de raízes e massa seca total.

### 3.5 COMPATIBILIDADE ENTRE OS ISOLADOS CEPA DE *BACILLUS* E *PSEUDOMONAS*

A compatibilidade entre os isolados de *Bacillus* e *Pseudomonas* obtidos a partir das triagens em casa de vegetação foi avaliada por meio do método de *cross-streak* (LERTCANAWANICHAKUL; SAWANGNOP, 2008), com adaptações. Para tanto, colônias dos respectivos isolados, com 18 h de crescimento em LBA, foram coletadas e estriadas em cruzamento. As placas foram incubadas por 48 h a 28 °C, sendo avaliadas a presença de zonas de inibição na intersecção entre os microrganismos e alterações no crescimento confluyente dos inóculos. A presença de alterações deletérias ao crescimento dos inóculos foi considerada como indicativo de incompatibilidade.

### 3.6 SEQUENCIAMENTO 16S rRNA (SANGER)

O DNA bacteriano foi extraído a partir de 50 mg de biomassa celular utilizando o kit QIAmp DNA (Qiagen), de acordo com as recomendações do fabricante. O DNA obtido foi quantificado e avaliado quanto à pureza utilizando o espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo).

A amplificação do material genético foi realizada em termociclador Veriti (Thermo), em reação contendo 20 ng de DNA genômico purificado com o kit GoTaq® G2 DNA Polymerase (Promega). Foram utilizados os primers 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') e 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'), e os

parâmetros de ciclagem e temperatura seguiram os protocolos descritos por Frank et al., (2008). Os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% (tampão TAE) e as reações foram purificadas enzimaticamente com ExoI/SAP (Thermo).

Os produtos de PCR foram marcados com BigDye v3.1 (Thermo), em reação contendo 50 ng de DNA. Foram utilizados 35 ciclos de desnaturação (96 °C/15 seg), anelamento do respectivo primer (60°C/15 s) e extensão do produto (60 °C/4 min). Os produtos marcados foram precipitados com 20% de acetato de amônio (7,5 M) e três volumes de etanol absoluto e, em seguida, ressuspensos em 10 µL de HiDi-formamida.

As amostras foram então sequenciadas utilizando a plataforma Genetic Analyser 3500xL (Thermo), com a utilização de capilares do polímero Pop7 (50 cm) (Thermo). Os eletroforetogramas gerados foram convertidos em sequências de bases com o software Sequencing Analysis v5.4 (Thermo). Foram geradas sequências de consenso entre as fitas oriundas dos primers forward e reverse utilizando o software BioEdit, as quais foram comparadas com o banco de dados do NCBI utilizando o software BLASTn.

### 3.7 PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

Para a determinação da produção de ácidos orgânicos pelos isolados de *Bacillus* e *Pseudomonas* selecionados para as triagens em consórcio foi adotada a metodologia de bioprocessos descrita por Amri et al., (2023), com adaptações. Suspensões bacterianas ajustadas a 0,5 na escala de McFarland foram inoculadas em 40 mL de TSB contidos em frascos Erlenmeyer de 125 mL e incubadas *overnight* a 30 °C e 150 rpm de agitação. Subsequentemente, as culturas foram transferidas na proporção de 2% (v/v) para caldo NBRIP (Nautiyal, 1999) suplementado com diferentes fontes de fosfato (NBRIP + Ca<sub>3</sub>[PO<sub>4</sub>]<sub>2</sub>, NBRIP + FePO<sub>4</sub> ou NBRIP + AlPO<sub>4</sub> e incubadas nas mesmas condições durante 10 dias.

A determinação analítica foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) utilizando metodologia de Yan et al., (2013), com adaptações. Foi utilizado o sistema Shimadzu LC-20A (Kyoto, Japão), equipado com bomba de alta pressão (LC-20AT), amostrador automático (SIL-20AC HT), detector de índice de refração (RID-10A), detector de arranjo de fotodiodos (SPD-M20A), forno de coluna

(CTO-20A) e módulo controlador do sistema (CBM-20A). A separação foi realizada em coluna Phenomenex 5 µm C18 MG (250 × 4,6 mm), mantida a 40 °C. A fase móvel consistiu em tampão fosfato de sódio 25 mM (pH 2,4), com vazão de 1,0 mL/min e volume de injeção de 20 µL. A detecção foi realizada com utilização simultânea dos detectores de índice de refração e o detector de arranjo de fotodiodos, em comprimento de onda fixo de 205 nm, com varredura espectral de 200 a 400 nm. Os dados foram adquiridos e processados por meio do software Shimadzu LCsolution (Kyoto, Japão). Foram utilizados os padrões de ácidos oxálico, glucônico, málico, láctico, acético, cítrico e succínico.

### 3.8 EXPERIMENTO EM CASA DE VEGETAÇÃO – CONSÓRCIO MICROBIANO

Para esse experimento foram realizados ensaios em casa de vegetação com as culturas da soja e do milho conforme descrito no item 3.4, com mudança do híbrido de milho para KWS K9510 VIP 3.

Para avaliação do consórcio em coinoculação, foram avaliadas duas cepas de *Bacillus* spp. (B-138 e B-143) e quatro cepas de *Pseudomonas* spp. (P-29, P-58, P-69, P-210), além da cepa CCT8089 de *Bacillus siamensis* em consórcio com (P-29, P-58, P-69, P-210) separadamente. As condições de obtenção dos inóculos microbianos seguiram o disposto em 3.3.

Esses tratamentos foram avaliados com 70% do suprimento de P recomendado para cultura, com três produtos comerciais como controle (+) sendo eles Hober Phos (ATCC 13525); Bioma Phos (BRM 119 *Bacillus megaterium* e BRM 2084 *Bacillus subtilis*) e CCT8089 (*Bacillus siamensis*). Além desses, tratamentos sem adição de produtos biológicos foram usados como controle negativo (-) sendo com 70 e 100% da dose de P, realizada simulando como fosse ocorrida no campo, com base na análise de solo do local e seguindo o manual de adubação do Paraná (Tabela 1).

Para avaliação de milho, as sementes foram inoculadas com os isolados de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. na dose de 100 mL/50 kg de sementes, tanto na inoculação isolada quanto no consórcio. Para a soja, sementes foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5079) e os isolados *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. na dosagem de 100 mL/50 kg de sementes, tanto na inoculação isolada quanto no consórcio e posteriormente semeados em vasos de 3.8 L com 1:1 (solo: areia).

Os experimentos foram conduzidos até aproximadamente 45 dias após a semeadura. O delineamento estatístico foi em blocos casualizados (DBC), com oito repetições e as características avaliadas serão: massa seca da parte aérea, massa seca de raiz e massa seca total e teor de fósforo na parte aérea.

**Tabela 2.** Matriz de combinações entre isolados de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. para formação dos consórcios bacterianos.

| <i>Pseudomonas</i> spp. | <i>Bacillus</i> spp. |               |                 |
|-------------------------|----------------------|---------------|-----------------|
|                         | B-138                | B-143         | CCT8089         |
| P-29                    | B-138 / P-29         | B-143 / P-29  | CCT8089 / P-29  |
| P-58                    | B-138 / P-58         | B-143 / P-58  | CCT8089 / P-58  |
| P-69                    | B-138 / P-69         | B-143 / P-69  | CCT8089 / P-69  |
| P-210                   | B-138 / P-210        | B-143 / P-210 | CCT8089 / P-210 |

Para as determinações laboratoriais de fósforo foi realizada a moagem da parte aérea, e foram pesados 0,5 g do material vegetal seco e triturado. Após a pesagem foram adicionados à amostra 6 mL de ácido nitroperclórico (4:1). O material foi mantido em uma pré digestão por aproximadamente 12 h, e, em seguida, levados ao bloco digestor, onde a digestão foi iniciada a uma temperatura inicial de 60 °C, e posteriormente a 120 °C, sendo elevados 30°C a cada meia hora até a temperatura de 210 °C.

Após a digestão foi realizada a diluição para 25 mL coma água deionizada, agitado em vórtex com três lavagens em água destilada, visando a retirada de toda a amostra do tubo, e posteriormente armazenado em tubos Falcon.

Para realizar a leitura do P em tecido vegetal foram utilizados os volumes 200 µL das amostras previamente diluídas, e foi adicionada água destilada até completar 5 mL. Foram utilizados 100 µL de ácido ascórbico e 10 mL de STM. Após a adição de todos os reagentes as amostras foram deixadas em descanso por 30 minutos para a realização da leitura. Após o descanso, foi retirada uma alíquota da amostra para a leitura a 660 nanômetros em espectrofotômetro. Após a leitura foi realizada a estimativa da concentração na parte aérea utilizando a curva padrão e as diluição das

amostras. Os teores de P, em mg/kg, foram multiplicados pela MSPA em kg para a obtenção dos valores de acúmulo de P pelas plantas.

### 3.9 EFICIÊNCIA AGRONÔMICA, DE RECUPERAÇÃO E FISIOLÓGICA DO FÓSFORO

Com base na massa seca da parte aérea (MSPA, g planta<sup>-1</sup>) e o conteúdo de fósforo na parte aérea (U, mg de P planta<sup>-1</sup>) foram quantificadas as eficiências agronômica, de recuperação e fisiológica do fósforo para as culturas do milho e da soja.

As eficiências foram expressas como variação percentual em relação ao controle com 70% de P. A seguir seguem as equações para:

(I) Eficiência Agronômica (AE):

$$AE = 100 \times \frac{U_i - U_o}{F}$$

Onde: U<sub>i</sub>: conteúdo médio de P na parte aérea (mg de P planta<sup>-1</sup>) dos tratamentos inoculados, U<sub>o</sub>: conteúdo médio de P no tratamento controle 70% de P (mg de P planta<sup>-1</sup>), e F: dose de P aplicada por vaso (91,6 mg de P vaso<sup>-1</sup>).

(II) Eficiência de recuperação (RE):

$$AE = 100 \times \left[ \left( \frac{Y_i/F}{Y_o/F} \right) - 1 \right]$$

Onde: Y<sub>i</sub> é a massa seca da parte aérea (MSPA, g planta<sup>-1</sup>) dos tratamentos inoculados, e Y<sub>o</sub> é MSPA do tratamento controle com 70% de P.

(III) Eficiência fisiológica (PE):

$$AE = 100 \times \left[ \left( \frac{Y_i/U_i}{Y_o/U_o} \right) - 1 \right]$$

### 3.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos para massa seca de raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), visando verificar a existência de diferenças significativas entre os tratamentos. Quando observado efeito significativo, as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott, a 1% ou 5% de probabilidade.

Adicionalmente, foi calculado o índice de seleção com base no ideótipo ideal, expresso em porcentagem, considerando simultaneamente as variáveis MSR, MSPA e MST, com o objetivo de identificar os tratamentos com desempenho mais próximo do padrão desejado para promoção do crescimento vegetal.

Para cada variável  $j$ :

$$I_{ij} = \left( \frac{\bar{X}_{ij}}{\bar{X}_{max,j}} \right) \times 100$$

onde:

- $\bar{X}_{ij}$  = média do tratamento  $i$  na variável  $j$
- $\bar{X}_{max,j}$  = maior média observada entre os tratamentos para a variável  $j$

## 4 RESULTADOS

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS ISOLADOS BIOPROSPECTADOS

As bioprospecções realizadas na rizosfera da soja culminaram no isolamento de 79 isolados bacterianos, sendo 22 possivelmente pertencentes ao gênero *Bacillus* e 57 pertencentes ao gênero *Pseudomonas*. Os isolados de *Bacillus* e as cepas de referência *B. subtilis* CNPMS B2084 e *B. megaterium* CNPMS B119 foram caracterizados quanto a características relacionadas à capacidade de crescimento de plantas em meio com baixa atividade de água (TSA-sorbitol), capacidade de supressão de fungos fitopatogênicos, produção de AIA e compatibilidade com as cepas comerciais *B. japonicum* (Semia 5079) e *A. brasilense* (Ab-V5) (Tabela 3).

Com base na caracterização dos *Bacillus* spp., todos os isolados foram capazes de crescer em meio com restrição da atividade de água, sendo um indicativo importante à promoção de tolerância à seca, e compatíveis com as cepas comerciais Ab-V5 e Semia 5079. Quanto à capacidade antagonista a fungos fitopatogênicos, a maioria dos isolados foi capaz de suprimir o crescimento dos fungos, seja por ausência de sobreposição devido ao rápido desenvolvimento e espalhamento dos isolados e/ou pela produção de metabólitos secundários gerando zonas de inibição do fungo. Apenas os isolados B-157 e B-160 não apresentaram inibição de *R. solani*. Para *M. phaseolina*, apenas o isolado B-160 (4,55%) não apresentou atividade inibitória, enquanto, para *S. sclerotiorum* foram os isolados B-148 e B-160.

Os isolados possivelmente do grupo de *Pseudomonas* spp. e a cepa de referência *P. fluorescens* ATCC 13525 foram avaliados quanto à capacidade de crescimento em elevada temperatura (42 °C), atividade antagonista frente a fungos fitopatogênicos, capacidade de solubilização de fosfato e silicatos potássicos e produção de AIA (Tabela 2). O crescimento a 42 °C foi observado em 18 isolados, demonstrando que aproximadamente um terço da coleção apresenta perfil termotolerante.

**Tabela 3.** Avaliação *in vitro* de características associadas à promoção de crescimento e proteção vegetal pelos isolados de *Bacillus*.

| ID                           | TSA-sorbitol | Antagonismo      |                      |                        | AIA (µg/mL) | Compatibilidade              |                                  |
|------------------------------|--------------|------------------|----------------------|------------------------|-------------|------------------------------|----------------------------------|
|                              |              | <i>R. solani</i> | <i>M. phaseolina</i> | <i>S. sclerotiorum</i> |             | <i>A. brasilense</i> (Ab-V5) | <i>B. japonicum</i> (Semia 5079) |
| <i>B. subtilis</i><br>B2084  | +            | -                | -                    | nt                     | 46,32*      | +                            | +                                |
| <i>B. megaterium</i><br>B119 | +            | -                | -                    | nt                     | 4,73*       | +                            | +                                |
| B-135                        | +            | ++               | ++                   | ++                     | nt          | +                            | +                                |
| B-138                        | +            | +                | ++                   | ++                     | 13,84       | +                            | +                                |
| B-139                        | +            | +                | ++                   | ++                     | 29,71       | +                            | +                                |
| B-143                        | +            | +                | ++                   | ++                     | 22,70       | +                            | +                                |
| B-148                        | +            | +                | +                    | -                      | nt          | nt                           | nt                               |
| B-149                        | +            | +                | +                    | +                      | nt          | nt                           | nt                               |
| B-150                        | +            | +                | +                    | +                      | nt          | nt                           | nt                               |
| B-154                        | +            | ++               | +                    | +                      | nt          | nt                           | nt                               |
| B-157                        | +            | -                | +                    | +                      | nt          | nt                           | nt                               |
| B-160                        | +            | -                | -                    | -                      | nt          | nt                           | nt                               |
| B-188                        | +            | ++               | ++                   | ++                     | nt          | nt                           | nt                               |

**Fonte:** Dados oriundos de Mosela et al. (2025); nt = não testado.

A atividade antagonista foi pouco frequente e de baixa intensidade para as cepas do gênero *Pseudomonas* spp. A inibição de *R. solani* foi detectada em dois isolados P-49 e P-207 como inibição localizada (+). Para *S. sclerotiorum*, apenas quatro isolados, P-29, P-102, P-109 e P-114 apresentaram antagonismo, sendo apenas o isolado P-29 formador de halo de inibição, enquanto oito P-81, P-102, P-106, P-108, P-109, P-109, P-110, P-114 e P-207 isolados inibiram *M. phaseolina*, com formação de halo em três isolados P-81, P-106 e P-207. O perfil observado indica uma capacidade antagonista mais discreta quando comparado ao perfil observado para os isolados de *Bacillus* sp. utilizados neste estudo.

Em contraste, atividades de solubilização de fosfato e silicato de potássio foram mais distribuídas e intensas entre o gênero. A solubilização de fosfato foi observada em 40 isolados, cuja expressiva fração apresentou a formação de halos (++) (n = 17; 29,82%). A solubilização de silicato de potássio foi ainda mais frequente,

ocorrendo em 46 isolados, também com predominância na formação de halos de solubilização (n = 29, 50,88%), sugerindo que a produção de mecanismos de solubilização constitui um mecanismo funcional distribuído entre os isolados pertencentes a *Pseudomonas* spp.

A produção de AIA foi detectada em todos os isolados, com valores variando de 20,92 a 147,30 µg/mL. O valor médio de produção de AIA para a coleção de isolados foi de 49,79 µg/mL. Estes dados revelam a ampla variabilidade do gênero quanto à biossíntese da auxina. Alguns dos Isolados com maiores concentrações de AIA coincidiram com perfis positivos de solubilização e termotolerância, indicando caráter multifuncional.

**Tabela 4.** Relação de isolados bioprospectados, pertencentes ao gênero *Pseudomonas* e suas caracterizações quanto à capacidade de crescimento em temperatura elevada, antagonismo contra fungos fitopatogênicos, solubilização de fosfato e silicato de potássio e a produção do fitormônio AIA.

| ID                                  | Cresc.<br>a 42 °C | Antagonismo          |                          |                        | Solubilização |    | AIA<br>(µg/mL) |
|-------------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------------|------------------------|---------------|----|----------------|
|                                     |                   | <i>R.<br/>solani</i> | <i>M.<br/>phaseolina</i> | <i>S. sclerotiorum</i> | P             | K  |                |
| <i>P. fluorescens</i><br>ATCC 13525 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | +  | 25,18          |
| P-002                               | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | +  | 41,41          |
| P-003                               | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | +  | 29,47          |
| P-021                               | -                 | -                    | -                        | -                      | -             | +  | 51,66          |
| P-024                               | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | -  | 59,72          |
| P-025                               | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 56,56          |
| P-026                               | -                 | -                    | -                        | -                      | -             | +  | 52,36          |
| P-027                               | -                 | -                    | -                        | -                      | -             | +  | 38,63          |
| P-029                               | -                 | -                    | -                        | ++                     | -             | -  | 82,93          |
| P-031                               | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | +  | 59,72          |
| P-032                               | -                 | -                    | -                        | -                      | -             | ++ | 33,95          |
| P-033                               | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 59,62          |
| P-034                               | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | -  | 68,18          |
| P-035                               | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 47,88          |
| P-036                               | -                 | -                    | -                        | -                      | -             | +  | 55,64          |
| P-038                               | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | -  | 52,96          |

Tabela 4. Continuação

| ID    | Cresc.<br>a 42 °C | Antagonismo          |                          |                        | Solubilização |    | AIA<br>(µg/mL) |
|-------|-------------------|----------------------|--------------------------|------------------------|---------------|----|----------------|
|       |                   | <i>R.<br/>solani</i> | <i>M.<br/>phaseolina</i> | <i>S. sclerotiorum</i> | P             | K  |                |
| P-038 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | -  | 52,96          |
| P-039 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | -  | 58,03          |
| P-040 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 41,41          |
| P-042 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | -  | 30,57          |
| P-048 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | +  | 33,65          |
| P-049 | +                 | +                    | -                        | -                      | -             | -  | 54,15          |
| P-050 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | +  | 39,92          |
| P-051 | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | ++ | 45,89          |
| P-052 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 20,92          |
| P-053 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | +  | 32,56          |
| P-054 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | -  | 147,30         |
| P-055 | -                 | -                    | -                        | -                      | -             | ++ | 33,65          |
| P-056 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | +  | 20,92          |
| P-057 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | -  | 27,48          |
| P-058 | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | ++ | 23,80          |
| P-061 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 71,26          |
| P-062 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | +  | 69,07          |
| P-063 | -                 | -                    | -                        | -                      | -             | ++ | 57,93          |
| P-068 | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | -  | 57,23          |
| P-069 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 68,48          |
| P-070 | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | ++ | 111,98         |
| P-073 | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | ++ | 43,90          |
| P-081 | -                 | -                    | ++                       | -                      | -             | +  | 31,26          |
| P-101 | -                 | -                    | -                        | -                      | ++            | ++ | 24,49          |
| P-102 | +                 | -                    | +                        | +                      | ++            | ++ | 48,28          |
| P-106 | +                 | -                    | ++                       | -                      | -             | -  | 21,95          |
| P-108 | +                 | -                    | +                        | -                      | -             | ++ | 26,63          |
| P-109 | +                 | -                    | +                        | +                      | ++            | ++ | 45,29          |
| P-110 | +                 | -                    | +                        | -                      | ++            | +  | 29,36          |
| P-111 | +                 | -                    | -                        | -                      | ++            | ++ | 38,73          |
| P-112 | +                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 52,26          |
| P-113 | +                 | -                    | -                        | -                      | ++            | ++ | 52,76          |

Tabela 4. Continuação

| ID    | Cresc.<br>a 42 °C | Antagonismo          |                          |                        | Solubilização |    | AIA<br>(µg/mL) |
|-------|-------------------|----------------------|--------------------------|------------------------|---------------|----|----------------|
|       |                   | <i>R.<br/>solani</i> | <i>M.<br/>phaseolina</i> | <i>S. sclerotiorum</i> | P             | K  |                |
| P-114 | +                 | -                    | +                        | +                      | ++            | ++ | 23,44          |
| P-115 | +                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 53,35          |
| P-116 | +                 | -                    | -                        | -                      | ++            | ++ | 51,76          |
| P-201 | -                 | -                    | -                        | -                      | +             | ++ | 53,95          |
| P-202 | +                 | -                    | -                        | -                      | -             | ++ | 24,10          |
| P-203 | +                 | -                    | -                        | -                      | -             | +  | 59,72          |
| P-207 | -                 | +                    | ++                       | -                      | ++            | -  | 51,56          |
| P-208 | +                 | -                    | -                        | -                      | -             | ++ | 54,55          |
| P-209 | +                 | -                    | -                        | -                      | -             | +  | 68,10          |
| P-210 | +                 | -                    | -                        | -                      | -             | ++ | 66,91          |
| P-211 | +                 | -                    | -                        | -                      | -             | ++ | 78,85          |

**Fonte:** o próprio autor

#### 4.2 EXPERIMENTO CASA DE VEGETAÇÃO – CEPAS *BACILLUS*

Pela análise de variância foi observado efeito significativo para fonte tratamento e experimento (T e E, respectivamente) para todas as variáveis analisadas (Tabela 5). Os coeficientes de variação foram de 10,52, 12,04 e 10,04 para MSR, MSPA e MST, respectivamente, indicando uma boa precisão experimental. As médias gerais observadas no experimento 2 foram superiores às do experimento.

**Tabela 5.** Análise de variância para a massa seca de raiz, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimento com milho, com sementes inoculadas com isolados de *Bacillus* sp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob diferentes doses de fósforo.

| Fonte de variação | GL  | Quadrado Médio <sup>1/</sup> |        |         |
|-------------------|-----|------------------------------|--------|---------|
|                   |     | MSR                          | MSPA   | MST     |
| Bloco/Experimento | 14  | 4,54                         | 21,35  | 45,11   |
| Tratamentos (T)   | 10  | 0,58**                       | 1,67*  | 2,19*   |
| Experimentos (E)  | 1   | 7,18**                       | 2,38** | 17,84** |
| T x E             | 10  | 0,12 <sup>ns</sup>           | 2,72** | 4,86**  |
| Erro              | 140 | 0,11                         | 0,58   | 0,91    |
| CV <sup>2/</sup>  |     | 10,52                        | 12,04  | 10,04   |
| Média (E1)        |     | 2,94                         | 6,23   | 9,17    |
| Média (E2)        |     | 3,35                         | 6,46   | 9,81    |

<sup>1</sup>\*,\*\* e <sup>ns</sup>: Significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F, e não significativo à 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>2</sup>CV: coeficiente de variação.

**Fonte:** o próprio autor.

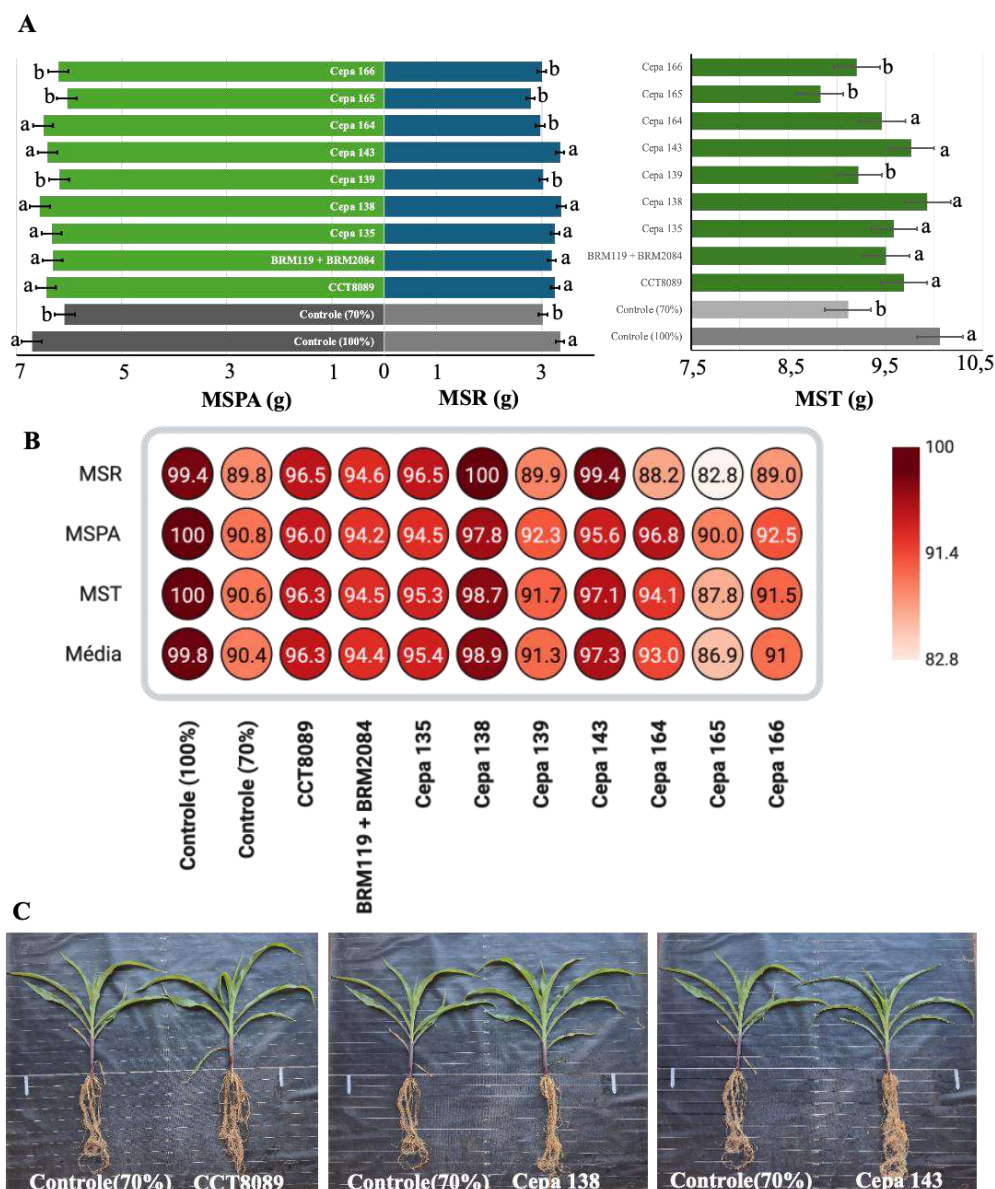
Para MSR, o controle com 100% da adubação recomendada apresentou 3,35 g, diferindo estatisticamente do controle com 70% da adubação fosfatada (3,02g). Essa diferença representa 10,9% de diminuição da MSR devido à redução da adubação fosfatada (Figura 1A). Sob 70% de adubação, a inoculação com CCT8089 (3,25 g), BRM119 + BRM2084 (3,19 g), B-135 (3,25 g), B-138 (3,37 g) e B-143 (3,35 g) resultou em valores estatisticamente semelhantes ao controle com 100% de adubação fosfatada. Em comparação ao controle com 70%, esses tratamentos promoveram incrementos de 7,6, 5,6, 7,6, 11,6 e 10,9%, respectivamente, na MSR (Tabela S1).

Em relação à MSPA, também foram observadas diferenças significativas entre os controles 100 e 70% da adubação fosfatada, com médias de 6,71 e 6,09g, respectivamente, o que representa 10% mais no tratamento com adubação completa (Figura 3A). Sob 70% de adubação, as inoculações com CCT8089 (6,44g), BRM119 + BRM2084 (6,32g) B-135 (6,34g), B-138 (6,56g), B-143 (6,41g) e B-164 (6,49g) resultaram em valores estatisticamente semelhantes ao controle com 100% de

adubação. Em comparação ao controle com 70%, esses tratamentos promoveram incrementos de 5,7, 3,8, 4,1, 7,7, 5,3 e 6,6%, respectivamente.

Para a MST, os valores observados entre os controles 100 e 70% da adubação fosfatada foram de 10,6 e 9,11 g, respectivamente, o que representa de 16,4% a mais no tratamento com adubação completa (Figura 1A). As plantas dos CCT8089 (9,69 g), BRM119 + BRM2084 (9,50 g), isolado B-135 (9,59 g), B-138 (9,93 g), B-143 (9,76 g) e B-164 (9,47 g) apresentaram os maiores valores e não diferindo do controle de 100%. Quando comparados ao controle com 70% da adubação, esses tratamentos promoveram incrementos de 6,4, 4,3, 5,3, 9,0, 7,1 e 4,0%, respectivamente, no acúmulo de biomassa total.

No Heatmap (Figura 3B), que sintetiza o desempenho relativo dos tratamentos para MSR, MSPA e MST (normalizados em relação ao maior valor observado em cada variável), houve redução no controle com 70% da adubação fosfatada, com valores de 89,8% (MSR), 90,8% (MSPA) e 90,6% (MST), resultando em média de 90,4%. Em contraste, diversos tratamentos inoculados sob 70% de adubação fosfatada apresentaram desempenho próximo ao máximo, destacando-se a cepa B-138, que atingiu 100% para MSR e manteve elevados valores para MSPA (97,8%) e MST (98,7%), com média de 98,9%. A cepa B-143 também promoveu desempenho elevado e equilibrado (MSR = 99,4%; MSPA = 95,6%; MST = 97,1%), com média de 97,3%. De modo semelhante, CCT8089 e B-135 exibiram desempenho relativo alto e estável (médias de 96,3 e 95,4%, respectivamente), enquanto as estirpes BRM119 + BRM2084 apresentaram média de 94,4%. A Figura 3C, corrobora os resultados quantitativos, evidenciando que plantas inoculadas com isolados CCT8089, B-138 e B-143) sob 70% de adubação fosfatadas apresentaram, de forma visual, maior desenvolvimento radicular e maior vigor em comparação às plantas controle não inoculadas e com 70% de adubação fosfatadas.



**Figura 3** - Efeito da inoculação de *Bacillus* sp. solubilizadores de fósforo na produção de biomassa de milho sob duas doses de fertilizante. (A) Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR) e massa seca total (MST), expressas em g. (B) Desempenho relativo (%) de MSR, MSPA, MST e média dos tratamentos, apresentado em mapa de calor. (C) Imagens representativas de plantas do tratamento controle (70%) e dos tratamentos inoculados. Barras representam médias (com erro associado) e letras distintas indicam diferença significativa entre tratamentos ( $p \leq 0,05$ ).

#### 4.3 EXPERIMENTO CASA DE VEGETAÇÃO - CEPAS *PSEUDOMONAS* SPP.

Pela análise de variância foi verificado efeito significativo dos tratamentos para os atributos biomassa, tanto para de milho quanto para soja (Tabela 6). Os coeficientes de variação foram considerados baixos a moderados, variando de 7,75 (MST – soja) a 28,22 (MSPA – milho), indicando boa precisão experimental.

**Tabela 6.** Análise de variância da massa seca de raiz, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimentos com milho e soja, com sementes inoculados com isolados de *Pseudomonas* sp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes, e sob diferentes doses de fósforo.

| Fonte de variação | GL  | Quadrado Médio <sup>1/</sup> |         |        |         |      |      |
|-------------------|-----|------------------------------|---------|--------|---------|------|------|
|                   |     | Milho                        |         |        | Soja    |      |      |
|                   |     | MSR                          | MSPA    | MST    | MSR     | MSPA | MST  |
| Bloco             | 7   | 3,13                         | 0,078   | 2,84   | 0,630   | 1,92 | 4,72 |
| Tratamentos (T)   | 23  | 0,23**                       | 0,733** | 1,32** | 0,045** | 0,23 | 0,39 |
| Erro              | 161 | 0,02                         | 0,334   | 0,35   | 0,011   | 0,02 | 0,04 |
| CV <sup>2/</sup>  |     | 9,64                         | 28,22   | 16,55  | 10,98   | 8,72 | 7,75 |
| Média             |     | 1,53                         | 2,05    | 3,58   | 0,94    | 1,72 | 2,66 |

<sup>1/</sup>\*,\*\* e ns: Significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F, e não significativo à 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>2/</sup>CV: coeficiente de variação.

Fonte: o próprio autor

No experimento com milho, não foram observadas diferenças para a MSR entre os controles com 100 e 70% da adubação fosfatada (1,63 e 1,57g, respectivamente). Contudo, sob 70% de P, as plantas dos tratamentos P-58, P-69, P-73 e P75 apresentaram médias superiores às dos controles (Tabela 7), com incrementos de 7,6, 10,8, 17,8 e 11,5%, respectivamente, em relação ao controle com 70% de P. Para MSPA, houve diferenças entre as plantas dos controles com 100 e 70% de P (2,23 e 1,74g, respectivamente), correspondendo a 28,16% a mais sob adubação completa. Em condições de 70% de P, as plantas dos tratamentos P-33, P-54, P-58, P-61, P-69, P-109, P-114, P-207 e P-210 apresentaram valores estatisticamente semelhantes ao controle não inoculado e com 100% de P. Quando

comparados ao controle 70%, esses tratamentos promoveram incrementos de 22,4, 23,6, 34,5, 38,5, 66,1, 36,8, 39,1, 22,4 e 29,9%, respectivamente.

**Tabela 7.** Análise de agrupamento de médias para massa seca de raízes, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimentos com milho e soja, inoculados com isolados de *Pseudomonas* sp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob diferentes doses de fósforo.

| Tratamentos     | Milho <sup>1/</sup> |               |               | Soja          |               |               |
|-----------------|---------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                 | MSR                 | MSPA          | MST           | MSR           | MSPA          | MST           |
| Controle (100%) | 1,63 <b>b</b>       | 2,23 <b>a</b> | 3,86 <b>b</b> | 1,04 <b>a</b> | 1,98 <b>a</b> | 3,01 <b>a</b> |
| Controle (70%)  | 1,57 <b>b</b>       | 1,74 <b>b</b> | 3,31 <b>c</b> | 0,82 <b>c</b> | 1,54 <b>c</b> | 2,36 <b>d</b> |
| ATCC 13525      | 1,29 <b>d</b>       | 1,59 <b>b</b> | 2,88 <b>c</b> | 0,94 <b>a</b> | 1,76 <b>b</b> | 2,70 <b>b</b> |
| Ab-V6 + CCTB03  | 1,44 <b>c</b>       | 1,97 <b>b</b> | 3,42 <b>c</b> | 1,03 <b>a</b> | 1,79 <b>b</b> | 2,82 <b>a</b> |
| Cepa P-24       | 1,31 <b>d</b>       | 1,89 <b>b</b> | 3,19 <b>c</b> | 1,06 <b>a</b> | 1,88 <b>a</b> | 2,94 <b>a</b> |
| Cepa P-29       | 1,62 <b>b</b>       | 1,95 <b>b</b> | 3,58 <b>c</b> | 1,03 <b>a</b> | 1,70 <b>c</b> | 2,72 <b>b</b> |
| Cepa P-31       | 1,33 <b>d</b>       | 1,88 <b>b</b> | 3,21 <b>c</b> | 1,02 <b>a</b> | 1,73 <b>b</b> | 2,75 <b>b</b> |
| Cepa P-33       | 1,56 <b>b</b>       | 2,13 <b>a</b> | 3,68 <b>b</b> | 0,94 <b>a</b> | 1,57 <b>c</b> | 2,52 <b>c</b> |
| Cepa P-34       | 1,29 <b>d</b>       | 1,90 <b>b</b> | 3,19 <b>c</b> | 0,84 <b>c</b> | 1,59 <b>c</b> | 2,43 <b>c</b> |
| Cepa P-54       | 1,51 <b>b</b>       | 2,15 <b>a</b> | 3,67 <b>b</b> | 0,91 <b>b</b> | 1,79 <b>b</b> | 2,71 <b>b</b> |
| Cepa P-58       | 1,69 <b>a</b>       | 2,34 <b>a</b> | 4,03 <b>b</b> | 0,93 <b>b</b> | 1,94 <b>a</b> | 2,87 <b>a</b> |
| Cepa P-61       | 1,65 <b>b</b>       | 2,41 <b>a</b> | 4,07 <b>b</b> | 0,92 <b>b</b> | 1,64 <b>c</b> | 2,56 <b>c</b> |
| Cepa P-69       | 1,74 <b>a</b>       | 2,89 <b>a</b> | 4,62 <b>a</b> | 1,00 <b>a</b> | 1,79 <b>b</b> | 2,79 <b>b</b> |
| Cepa P-70       | 1,26 <b>d</b>       | 1,54 <b>b</b> | 2,80 <b>c</b> | 0,93 <b>b</b> | 1,72 <b>b</b> | 2,65 <b>b</b> |
| Cepa P-73       | 1,85 <b>a</b>       | 1,97 <b>b</b> | 3,82 <b>b</b> | 0,90 <b>b</b> | 1,84 <b>b</b> | 2,73 <b>b</b> |
| Cepa P-81       | 1,41 <b>c</b>       | 1,94 <b>b</b> | 3,36 <b>c</b> | 0,92 <b>b</b> | 1,24 <b>e</b> | 2,16 <b>d</b> |
| Cepa P-102      | 1,60 <b>b</b>       | 1,93 <b>b</b> | 3,53 <b>c</b> | 0,98 <b>a</b> | 1,66 <b>c</b> | 2,64 <b>b</b> |
| Cepa P-109      | 1,61 <b>b</b>       | 2,38 <b>a</b> | 3,99 <b>b</b> | 0,86 <b>c</b> | 1,65 <b>c</b> | 2,51 <b>c</b> |
| Cepa P-113      | 1,53 <b>b</b>       | 1,92 <b>b</b> | 3,45 <b>c</b> | 0,96 <b>a</b> | 1,95 <b>a</b> | 2,91 <b>a</b> |
| Cepa P-114      | 1,23 <b>d</b>       | 2,42 <b>a</b> | 3,65 <b>b</b> | 0,80 <b>c</b> | 1,46 <b>d</b> | 2,26 <b>d</b> |
| Cepa P-207      | 1,75 <b>a</b>       | 2,13 <b>a</b> | 3,88 <b>b</b> | 0,88 <b>b</b> | 1,69 <b>c</b> | 2,57 <b>c</b> |
| Cepa P-208      | 1,58 <b>b</b>       | 1,73 <b>b</b> | 3,31 <b>c</b> | 0,81 <b>c</b> | 1,61 <b>c</b> | 2,42 <b>c</b> |
| Cepa P-210      | 1,58 <b>b</b>       | 2,26 <b>a</b> | 3,85 <b>b</b> | 0,96 <b>a</b> | 1,93 <b>a</b> | 2,89 <b>a</b> |
| Cepa P-211      | 1,64 <b>b</b>       | 1,86 <b>b</b> | 3,50 <b>c</b> | 1,01 <b>a</b> | 1,83 <b>b</b> | 2,84 <b>a</b> |

<sup>1/</sup>Letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de agrupamento de Scott-Knott (1976) a 5% de probabilidade.

Fonte: o próprio autor.

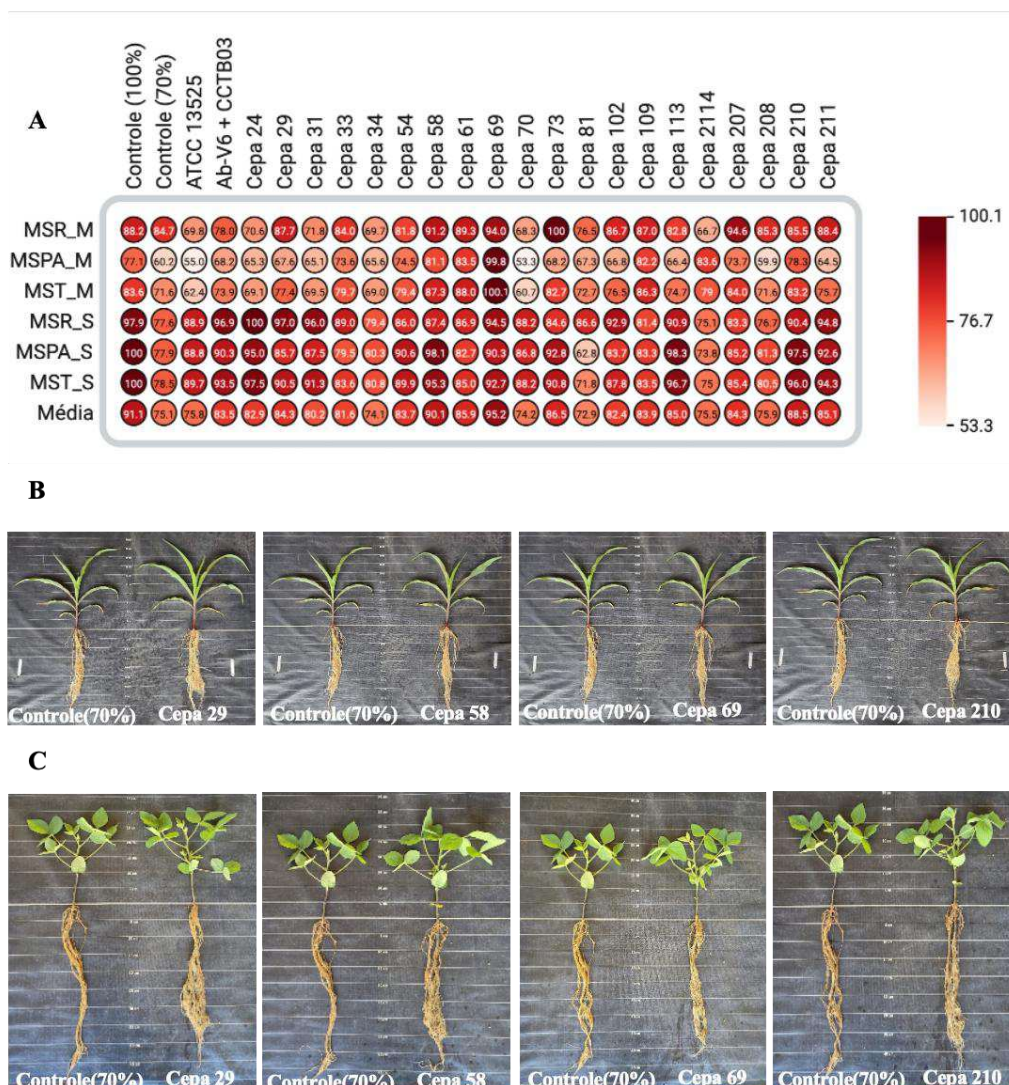
Para MST na cultura do milho houve diferenças entre os controles 100 e 70% de P (3,86 e 3,31 g, respectivamente), correspondendo a 16,6% em favor da adubação completa. As plantas do tratamento P-69 obtiveram valor significativamente superior aos controles com 70 e 100% de P, com incrementos de 39,58 e 19,69%, respectivamente. As plantas dos tratamentos P-54, P-58, P-61, P-73, P-109, P114, P-207, e P-210 obtiveram médias estatisticamente semelhantes às do controle com 100% de P. Quando comparados ao controle 70%, esses tratamentos promoveram incrementos de 11,2, 10,9, 21,8, 23,0, 15,4, 20,5, 10,3, 17,2 e 16,3%, respectivamente na biomassa total das plantas.

Para o experimento com soja, as plantas dos controles com 70 e 100% da adubação fosfatada diferiram estatisticamente para os atributos de biomassa, com aumentos de 26,83, 28,57 e 27,54%, respectivamente, para MSR, MSPA e MST no tratamento com adubação completa (Tabela 5). Para MSR, sob 70% de P, 18 tratamentos aumentaram essa variável em relação ao controle com 70% de P, enquanto 11 apresentaram médias estatisticamente semelhantes às do controle com 100% de P. Em comparação ao controle com 70% de P, os tratamentos promoveram incrementos variando de 7,3 a 29,3%.

Para MSPA na soja, sob 70% P, 12 tratamentos resultaram em médias superiores às do controle com 70% de P. Dentre esses, P-24, P-58, P-113 e P-210 promoveram médias estatisticamente semelhantes às do controle com 100% de P. Em comparação ao controle 70%, os incrementos variaram de 11,7 a 28,6% entre os tratamentos inoculados. Para MST, as plantas da maioria dos tratamentos diferiram daquelas do controle 70%, exceto P-81 e P-114. Os incrementos em relação ao controle 70% variaram de 2,5 a 24,6%, com destaque para as plantas dos tratamentos BRM119+BRM2084, P-24, P-58, P-113, P-210 e P-211, que não diferiram do controle com 100% de P.

A Figura 4 integra o padrão de respostas aos tratamentos sob adubação fosfatada reduzida a 70%. No heatmap (Figura 4A), foi observada redução geral do desempenho relativo no controle com 70% de P, enquanto as plantas de alguns tratamentos mantiveram valores elevados e mais equilibrados entre MSR, MSPA e MST, indicando maior estabilidade do crescimento quando o fósforo é limitante. Esse contraste é particularmente evidente no milho para as variáveis associadas ao acúmulo de biomassa aérea e total, ao passo que, na soja, o efeito da redução de P se distribui de modo mais uniforme entre os atributos da biomassa. As imagens

representativas (Figura 4B e C) corroboram essa tendência, evidenciando maior vigor das plantas inoculadas.



**Figura 4.** Efeito da inoculação de isolados de *Pseudomonas* sp. solubilizadores de fósforo na produção de biomassa de milho e soja sob duas doses de fósforo 70 e 100%.

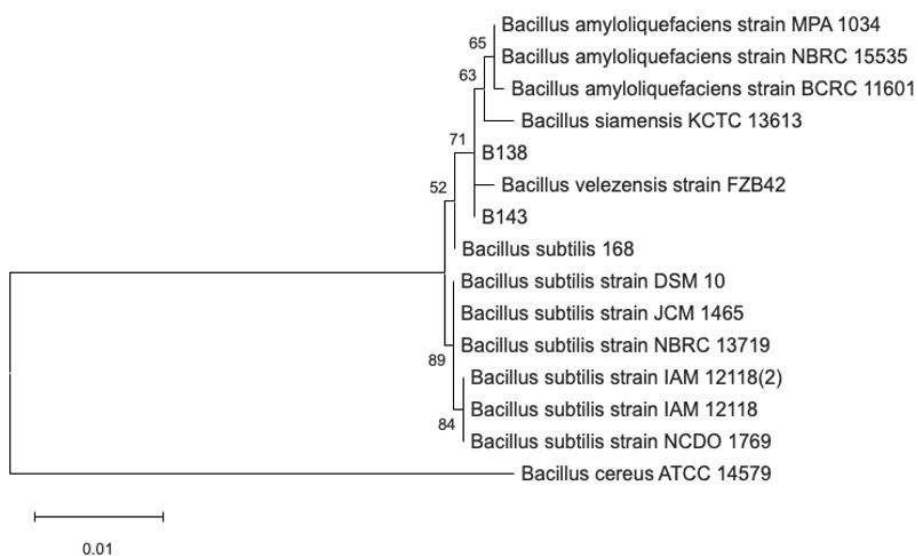
(A) Desempenho relativo (%) da massa seca de raízes (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST) para milho (M) e soja (S), em relação à média geral dos tratamentos. (B) Plantas de milho representativas do tratamento controle (70%) e dos tratamentos inoculados (cepas 29, 58, 69 e 210), evidenciando diferenças no vigor e no desenvolvimento radicular e da parte aérea. (C) Plantas de soja representativas do tratamento controle (70%) e dos tratamentos inoculados (cepas 29, 58, 69 e 210), ilustrando diferenças no vigor e no desenvolvimento radicular e da parte aérea.

#### 4.4 SEQUENCIAMENTO DO RDNA16S

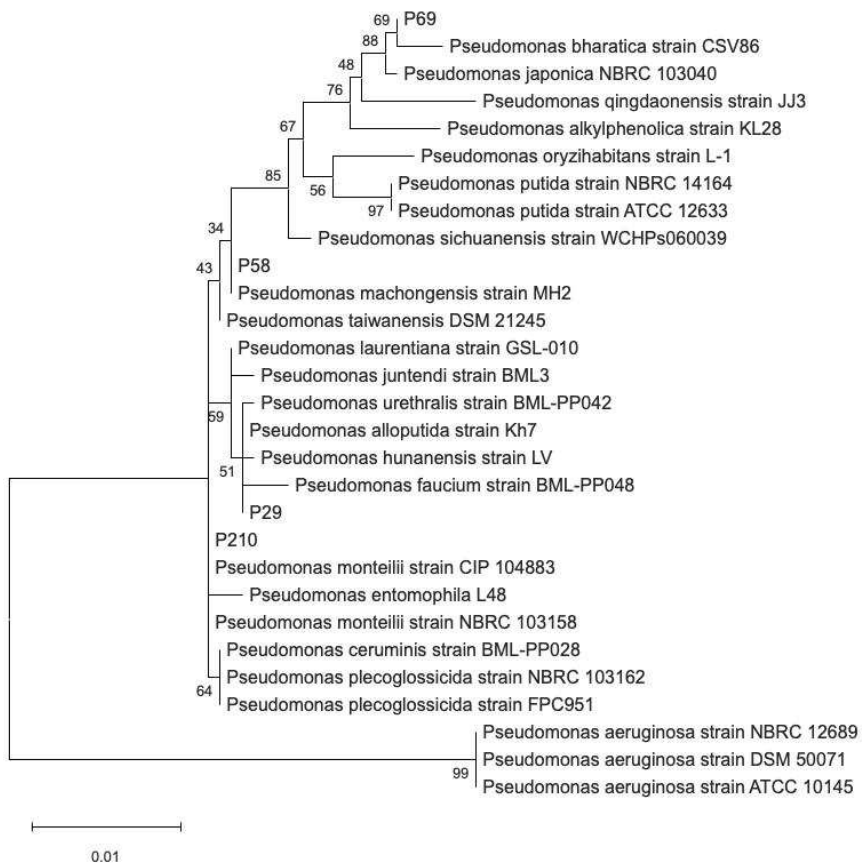
Com base nas sequências do DNA ribossomal, as cepas B138 e B143 agruparam-se no clado do “complexo *B. amyloliquefaciens*” (que inclui linhagens de *B. amyloliquefaciens*, *B. siamensis* e *B. velezensis*), ficando separadas do agrupamento formado por linhagens de *B. subtilis* (Figura 5A). A cepa B143 ficou agrupada próxima a cepa *B. velezensis* FZB42, indicando proximidade filogenética com essa cepa. Por sua vez, a cepa B138 foi agrupada próxima ao agrupamento contendo *B. siamensis* KCTC 13613 e linhagens de *B. amyloliquefaciens*.

No gênero *Pseudomonas* (Figura 5B), as cepas do estudo distribuíram-se em diferentes linhagens dentro do gênero. A cepa P69 agrupou-se com *P. bharatica* CSV86 e *P. japonica* NBRC 103040. A cepa P58 foi alocada próxima de *P. machongensis* MH2, enquanto a cepa P29 foi alocada no clado que inclui *P. hunanensis* LV e *P. faucium* BML-PP048. Por fim, a cepa P210 agrupou-se no clado que reúne linhagens relacionadas a *P. monteilii* (CIP 104883/NBRC 103158), além de *P. entomophila*, *P. ceruminis* e *P. plecoglossicida*. Em paralelo, do clado de *P. aeruginosa* (NBRC 12689/DSM 50071/ATCC 10145) apareceu separado do clado onde se posicionaram as cepas do estudo.

A



B



**Figura 5.** Árvores filogenéticas inferidas a partir de sequências do gene ribossomal 16S para posicionar as cepas deste estudo em relação a linhagens de referência.

(A) Gênero *Bacillus*. (B) Gênero *Pseudomonas*. As árvores foram reconstruídas pelo método de Máxima Verossimilhança sob o modelo Tamura–Nei. A árvore inicial foi obtida automaticamente por Neighbor-Joining/Maximum Parsimony e otimizada por Nearest-Neighbor-Interchange (NNI). O suporte dos nós foi avaliado por bootstrap com 1000 replicações.

#### 4.5 QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

A análise dos ácidos orgânicos produzidos pelos isolados bacterianos em meio NBRIP contendo diferentes fontes de fosfato insolúvel (Al-P, Fe-P e Ca-P) revelou variação significativa tanto na quantidade total quanto no perfil metabólico entre os isolados (Tabela 8).

De modo geral, o ácido glucônico foi o composto predominante na maioria dos isolados, principalmente pela mudança das fontes de fósforo. Esse padrão foi especialmente evidente no meio contendo fosfato de alumínio ( $\text{AlPO}_4$ ), no qual os isolados B-142, P-58 e P-210 apresentaram as maiores produções totais de ácidos orgânicos, com predominância de ácido glucônico com valores de 2,08, 1,95 e 1,83 mmol/l respectivamente.

No meio contendo fosfato de ferro ( $\text{FePO}_4$ ), observou-se produção total moderada de ácidos orgânicos, mantendo-se o ácido glucônico como componente majoritário produzido pelos isolados P-29, P-69 e P-210 com 0,91, 1,03 e 0,83 mmol/L respectivamente, embora perfis mistos envolvendo ácidos com potencial complexante também tenham sido detectados.

No meio contendo fosfato de cálcio ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), verificaram-se os maiores valores de produção total de ácidos orgânicos entre todos os tratamentos. Destacaram-se os isolados P-58, e P-69, com elevada produção de ácido láctico e glucônico, com 7,56 e 25 mmol/L de ácido glucônico, respectivamente e 37,14 e 4,17 mmol/l de ácido láctico respectivamente. Por sua vez o isolado P-29 se destacou na produção de ácido glucônico com um total de 28,43 mmol/L.

**Tabela 8.** Produção de ácido orgânico (mmol L<sup>-1</sup>) nos isolados de *Bacillus* e *Pseudomonas* em meio NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) com AlPO<sub>4</sub>, Fe PO<sub>4</sub> e Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

| Ácidos orgânicos  | Isolados |       |          |      |      |      |       | ATCC 13525 |
|-------------------|----------|-------|----------|------|------|------|-------|------------|
|                   | B-138    | B-143 | BRM 2084 | P-29 | P-58 | P-69 | P-210 |            |
| AlPO <sub>4</sub> |          |       |          |      |      |      |       |            |
| Oxálico           | 0.00     | 0.00  | 0.00     | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00  | 0.00       |
| Glucônico         | 0.00     | 2.08  | 1.93     | 1.92 | 1.95 | 1.59 | 1.83  | 0.00       |
| Málico            | 0.34     | 0.33  | 0.17     | 0.06 | 0.12 | 0.22 | 0.12  | 0.10       |
| Lático            | 0.78     | 0.32  | 0.07     | 0.02 | 0.16 | 0.08 | 0.09  | 0.15       |
| Acético           | 0.22     | 0.19  | 0.05     | 0.10 | 0.11 | 0.12 | 0.12  | 0.20       |
| Cítrico           | 0.09     | 0.12  | 0.08     | 0.01 | 0.06 | 0.05 | 0.05  | 0.07       |
| Total             | 1.44     | 3.05  | 2.31     | 2.12 | 2.40 | 2.06 | 2.22  | 0.52       |
| FePO <sub>4</sub> |          |       |          |      |      |      |       |            |
| Oxálico           | 0.00     | 0.00  | 0.00     | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00  | 0.00       |
| Glucônico         | 0.00     | 0.00  | 0.00     | 0.91 | 0.00 | 1.03 | 0.83  | 0.94       |
| Málico            | 0.12     | 0.11  | 0.08     | 0.12 | 0.07 | 0.07 | 0.07  | 0.07       |
| Lático            | 0.47     | 0.19  | 0.05     | 0.08 | 0.09 | 0.05 | 0.06  | 0.01       |
| Acético           | 0.20     | 0.19  | 0.13     | 0.06 | 0.11 | 0.16 | 0.16  | 0.02       |
| Cítrico           | 0.08     | 0.11  | 0.07     | 0.05 | 0.07 | 0.07 | 0.09  | 0.01       |
| Total             | 0.87     | 0.60  | 0.33     | 1.22 | 0.35 | 1.39 | 1.20  | 1.04       |

ND: não detectado

Tabela 8. continuação

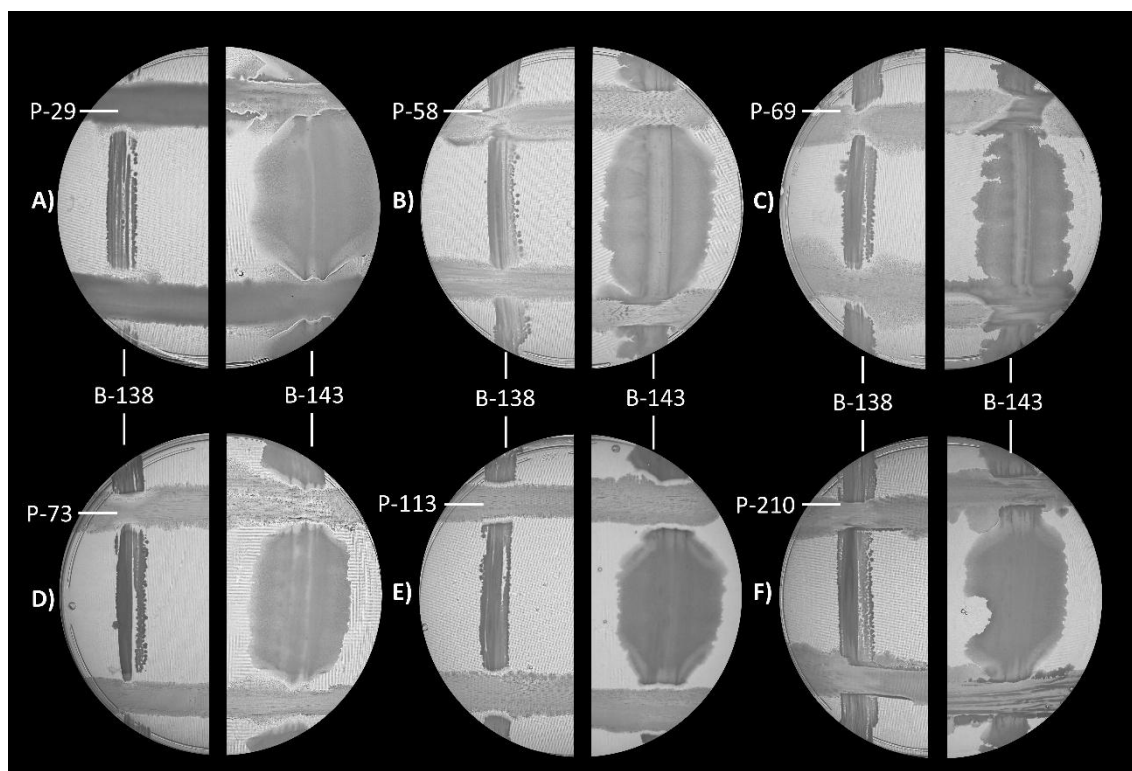
| Ácidos orgânicos                                | Isolados |       |             |       |       |       |       | ATCC<br>13525 |
|-------------------------------------------------|----------|-------|-------------|-------|-------|-------|-------|---------------|
|                                                 | B-138    | B-143 | BRM<br>2084 | P-29  | P-58  | P-69  | P-210 |               |
| Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> |          |       |             |       |       |       |       |               |
| Oxálico                                         | 0.00     | 0.00  | 0.00        | 0.00  | 0.00  | 0.00  | 0.00  | 0.00          |
| Glucônico                                       | 0.69     | 0.00  | 0.17        | 28.43 | 7.56  | 25.05 | 1.64  | 22.02         |
| Málico                                          | 5.30     | 5.22  | 0.21        | 0.15  | 0.21  | 8.19  | 0.15  | 0.38          |
| Lático                                          | 5.23     | 1.89  | 1.15        | 0.17  | 37.14 | 4.17  | 0.19  | 13.82         |
| Acético                                         | 0.63     | 0.67  | 0.39        | 0.28  | 0.00  | 0.13  | 0.12  | 0.00          |
| Cítrico                                         | 0.19     | 0.00  | 0.00        | 0.10  | 0.19  | 0.11  | 0.11  | 0.17          |
| Total                                           | 12.04    | 7.78  | 1.92        | 29.13 | 45.11 | 37.65 | 2.21  | 36.39         |

ND: não detectado

#### 4.6 COMPATIBILIDADE *IN VITRO* ENTRE ISOLADOS DE *BACILLUS* X *PSEUDOMONAS*

Por meio da metodologia de *cross-streak* foram avaliadas as interações nas intersecções entre os isolados de *Bacillus* e *Pseudomonas*, o que revelou distintos padrões nessas interações. Quanto ao isolado B-138, foram observadas zonas de inibição em todos os contrastes, excetuando-se na interação com P-210. Uma inibição menos pronunciada também foi observada em contato com P-58. Entre as interações observadas para o isolado B-143, não foram observadas zonas de inibição apenas quando contrastado com os isolados P-58 e P-210 (Figura 7).

**Figura 6.** Compatibilidade entre isolados de *Bacillus* spp. (linhas verticais) e *Pseudomonas* spp. (linhas horizontais) avaliada pelo método *cross-streak*. As metades esquerdas correspondem ao isolado B-138 e as direitas ao isolado B-143. Isolados testados: P-29 (A), P-58 (B), P-69 (C), P-73 (D), P-113 (E) e P-210 (F).



Frente aos padrões observados, a coinoculação entre os isolados foi avaliada em casa de vegetação para validação do potencial de incremento na promoção de crescimento vegetal em condições de adubação reduzida de fósforo (70%). Para tanto, foram escolhidos 4 isolados de *Pseudomonas*, P-58 e P-210, por apresentarem baixo potencial antagônico e P-29 e P-69 que, apesar da presença de zonas de inibição nos contrastes, apresentaram resposta positiva na promoção do crescimento em avaliações anteriores.

#### 4.7 CONSÓRCIO *BACILLUS* SPP. X *PSEUDOMONAS* SPP.

Houve efeito significativo de tratamentos para todas as características avaliadas nos experimentos com milho e soja (Tabela 8). Os coeficientes de variação foram considerados baixos, variando de 3,93 (MSPA – soja) a 12,52 (MST – soja), indicando boa precisão experimental.

**Tabela 9.** Análise de variância da massa seca de raízes, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimentos com milho e soja, inoculados com consórcio de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob diferentes doses de fósforo.

| Fonte de variação | GL  | Quadrado Médio <sup>1/</sup> |        |         |         |        |        |
|-------------------|-----|------------------------------|--------|---------|---------|--------|--------|
|                   |     | Milho                        |        |         | Soja    |        |        |
|                   |     | MSR                          | MSPA   | MST     | MSR     | MSPA   | MST    |
| Bloco             | 7   | 2,10**                       | 3,89** | 11,72** | 0,159** | 1,92** | 1,65** |
| Tratamentos (T)   | 22  | 0,31**                       | 0,51** | 1,34**  | 0,061** | 0,23** | 0,32** |
| Erro              | 149 | 0,01                         | 0,02   | 0,05    | 0,001   | 0,02   | 0,14   |
| CV <sup>2/</sup>  |     | 6,48                         | 5,23   | 4,30    | 4,39    | 3,93   | 12,52  |
| Média             |     | 1,90                         | 2,80   | 4,71    | 0,74    | 2,37   | 3,07   |

<sup>1/</sup>\*,\*\* e ns: Significativo a 5 e 1% de probabilidade pelo teste F, e não significativo à 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>2/</sup>CV: coeficiente de variação.

**Fonte:** o próprio autor

Para a cultura do milho a MSR do controle com 100% de P diferiram em relação ao controle com 70% de P (1,96 e 1,83 g, respectivamente) o que representa 7,1% a mais no tratamento com adubação completa, com 6 tratamentos diferindo de ambos os controles, com destaque para os isolados P-58, B-138, P-69, B-138 + P-29, B-143 + P-29 e B-143 + P-210, que apresentaram diferença significativa em relação ao controle com adubação completa, com incrementos de 16,84, 12,76, 15,31, 14,29, 7,14 e 10,20%, respectivamente.

Em relação à MSPA do milho, o controle com 100% de P foi estatisticamente superior ao controle com 70% (2,88 e 2,60 g, respectivamente), representando uma diferença de 10,8% a mais para o primeiro. Dezesete tratamentos de inoculação ou coinoculação foram superiores estatisticamente ao controle com 70% e 6 ao controle com adubação completa, com destaque para os tratamentos ATCC 13525, B-138, P-69, B-138 + P-210 e B-138 + P-29, obtendo incrementos em comparação à adubação completa de 6,25, 8,33, 12,50, 9,03 e 16,67%, respectivamente. Como reflexo, os maiores valores de MST em milho foram registrados nos tratamentos B-138 + P-29, P-69, B-138, P-58 e B-138 + P-210, os

quais apresentaram incrementos de 15,70, 13,64, 10,12, 5,79 e 5,58%, respectivamente, em relação ao controle com 100% de P (4,84 g).

Na cultura da soja, observaram-se menos efeitos dos tratamentos. Para MSR, o controle com 70% de P foi superior ao controle com 100% (0,86 e 0,77 g, respectivamente), destacando-se apenas as plantas do tratamento CCT8089 + P-210 (0,95 g), que apresentaram incremento de aproximadamente 10,5% em relação ao controle com 70% de P.

Quanto à MSPA da cultura da soja, o controle com adubação completa foi estatisticamente superior ao controle com 70% de P (2,44 e 2,33 g, respectivamente), representando uma diferença 4,7% em favor da adubação completa. Entretanto, quando foi realizada inoculação ou coinoculação, 14 tratamentos diferiram do controle com 70% de P e oito do controle com 100%, sendo eles ATCC 13525, B-138, P-210, P-29, B-138 + P-58, B-138 + P-69 e B-143 + P-29[MN87.1]. Em relação ao controle 100% de P, os incrementos foram de 2,46, 4,92, 4,51, 1,23, 4,10, 1,64 e 2,05%, respectivamente. Para a MST, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e os controles com 100 ou 70% de adubação fosfatada, sugerindo que, apesar das respostas observadas para MSR e MSPA, não houve reflexo estatístico na biomassa total das plantas (Tabela 9).

**Tabela 10.** Análise de agrupamento de médias para massa seca de raízes, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimentos com milho e soja, inoculados com isolados ou consórcio de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob diferentes doses de P.

| Tratamentos         | Milho <sup>1/</sup> |        |        | Soja   |        |        |
|---------------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
|                     | MSR                 | MSPA   | MST    | MSR    | MSPA   | MST    |
| Controle (100% P)   | 1,96 c              | 2,88 c | 4,84 d | 0,77 d | 2,44 b | 3,21 a |
| Controle (70% P)    | 1,83 d              | 2,60 d | 4,44 e | 0,86 b | 2,33 c | 3,15 a |
| ATCC 13525          | 1,83 d              | 3,06 b | 4,90 d | 0,81 c | 2,50 a | 3,31 a |
| BRM 119 + BRM 2084  | 1,71 e              | 2,46 d | 4,17 f | 0,74 d | 2,30 c | 2,60 b |
| CCT8089             | 1,82 d              | 2,75 c | 4,56 e | 0,81 c | 2,34 c | 3,15 a |
| Cepa B-138          | 2,21 a              | 3,12 b | 5,33 b | 0,75 d | 2,56 a | 3,31 a |
| Cepa B-143          | 1,74 e              | 2,89 c | 4,63 e | 0,62 f | 2,17 d | 2,79 b |
| Cepa P-58           | 2,29 a              | 2,83 c | 5,12 c | 0,79 c | 2,36 b | 3,16 a |
| Cepa P-210          | 1,61 e              | 2,85 c | 4,47 e | 0,63 f | 2,55 a | 3,18 a |
| Cepa P-29           | 1,68 e              | 2,41 d | 4,09 f | 0,57 g | 2,47 a | 3,04 a |
| Cepa P-69           | 2,26 a              | 3,24 a | 5,50 a | 0,68 e | 2,27 c | 2,95 b |
| Cepas B-138 + P-58  | 1,82 d              | 2,80 c | 4,62 e | 0,76 d | 2,54 a | 2,84 b |
| Cepas B-138 + P-210 | 1,97 c              | 3,14 b | 5,11 c | 0,61 f | 2,06 e | 2,67 b |
| Cepas B-138 + P-29  | 2,24 a              | 3,36 a | 5,60 a | 0,63 f | 2,50 a | 3,09 a |
| Cepa B-138 + P-69   | 1,65 e              | 2,52 d | 4,17 f | 0,81 c | 2,48 a | 3,29 a |
| Cepas B-143 + P-58  | 1,89 d              | 2,85 c | 4,74 e | 0,77 d | 2,26 c | 3,03 a |
| Cepas B-143 + P-210 | 2,16 b              | 2,80 c | 4,96 d | 0,71 e | 2,38 b | 3,09 a |
| Cepas B-143 + P-29  | 2,10 b              | 2,76 c | 4,87 d | 0,69 e | 2,49 a | 3,19 a |
| Cepa B-143 + P-69   | 1,79 d              | 2,39 d | 4,18 f | 0,77 d | 2,18 d | 2,94 a |
| CCT8089 + P-58      | 1,76 e              | 2,48 d | 4,24 f | 0,74 d | 2,39 b | 3,14 a |
| CCT8089 + P-210     | 1,82 d              | 2,70 c | 4,52 e | 0,95 a | 2,41 b | 3,36 a |
| CCT8089 + P-29      | 1,86 d              | 2,69 c | 4,55 e | 0,77 d | 2,24 c | 3,01 a |
| CCT8089 + P-69      | 1,85 d              | 2,83 c | 4,67 e | 0,78 c | 2,44 b | 3,23 a |

<sup>1/</sup>Letras iguais na coluna não difere estatisticamente pelo teste dde agrupamento de Scott-Knott (1976) a 5% de probabilidade.

**Fonte:** o próprio autor

A inoculação com os isolados e consórcio de *Bacillus* e *Pseudomonas* promoveu alterações expressivas nas eficiências relacionadas ao fósforo nas culturas do milho e da soja, com maior destaque para a eficiência de aquisição de fósforo (PUpE).

No milho, os valores de PUpE variaram de 0,132 mg mg<sup>-1</sup> no controle com adubação completa para até 0,250 mg mg<sup>-1</sup> no consórcio B-138 + P-210, representando um aumento de aproximadamente 89% em relação ao controle não inoculado e com 100% de P. As plantas de outros tratamentos também apresentaram elevada eficiência de aquisição, como Ab-V6 + CCTB03, o isolado P-58, isolado P-29 e o consórcio de CCT8089 + P-29, evidenciando maior mobilização e absorção de fósforo pelas plantas inoculadas que obtiveram os valores de 0,216, 0,202, 0,199, 0,185 mg mg<sup>-1</sup>, respectivamente. A eficiência de utilização de fósforo (PUtE) apresentou menor amplitude de variação em comparação à PUpE. No milho, os valores oscilaram entre 0,133 e 0,271 g mg<sup>-1</sup>, com destaque para B-138 + P-69, isolado B-143 e CCT8089 + P-58 (0,271, 0,245, 0,222 mg mg<sup>-1</sup>, respectivamente), indicando maior capacidade de conversão do fósforo absorvido em biomassa. Já a eficiência total de uso de fósforo (PUE) acompanhou as tendências observadas para a PUpE, sendo os maiores valores registrados no isolado P-69 (0,035 g mg<sup>-1</sup>) e nos tratamentos consórcio B-138 + P-210, isolado B-138 e o consórcio de B-138 + P-29 (0,034 g mg<sup>-1</sup>).

Na soja, a PUpE variou entre 0,160 mg mg<sup>-1</sup> no controle 100% e valores superiores a 0,210 mg mg<sup>-1</sup> nos tratamentos inoculados, destacando-se o isolado P-58, o consórcio CCT8089 + P-210, o isolado B-138, as combinações B-138 + P-69 e B-143 + P-210, com valores de 0,216, 0,215, 0,214, 0,211 e 0,210, respectivamente. As plantas do tratamento com o isolado P-58 apresentaram o maior incremento na eficiência de aquisição de fósforo, com aumento de aproximadamente 35% em relação ao controle com 100% de P, enquanto as plantas do consórcio CCT8089 + P-210 destacaram-se entre as coinoculações, com incremento de aproximadamente 34%. A PUtE variou de 0,120 a 0,139 mg mg<sup>-1</sup>, evidenciando comportamento mais estável entre os tratamentos, com destaque para CCT8089 + P-210 (0,139 g mg<sup>-1</sup>), que apresentou a maior eficiência de utilização do fósforo. A PUE acompanhou as tendências observadas para a PUpE, assim como no milho, porém com valores mais

uniformes, variando entre 0,023 e 0,027 g mg<sup>-1</sup>, com leve superioridade nas plantas dos tratamentos coinoculados, destacando-se B-138 + P-69 (0,027 g mg<sup>-1</sup>).

#### 4.8 EFICIÊNCIA AGRONÔMICA, DE RECUPERAÇÃO E FISIOLÓGICA DO FÓSFORO

A eficiência agronômica (AE) representa a variação na biomassa da parte aérea produzida por unidade de P aplicado, indicando ganhos (valores positivos) ou perdas (valores negativos) no acúmulo de biomassa em relação ao controle com 70% de P (Tabela 11). A eficiência de recuperação (RE) reflete a variação na aquisição/absorção de P (conteúdo de P na parte aérea) por unidade de P aplicado, sendo um indicador do componente de “aquisição” de P. Por sua vez, a eficiência fisiológica (PE) expressa a variação na conversão do P acumulado em biomassa (componente de “utilização interna” do P), destacando tratamentos que aumentam a biomassa, mesmo sem grandes incrementos de P acumulado.

Em milho, foi observada maior amplitude de resposta dos índices de eficiência do P entre os tratamentos inoculados, com AE variando de -10,48 a +24,40% e predominância de respostas positivas em diversos tratamentos. O maior incremento de AE foi obtido com cepas B-138 + P-210 (+24,40%), seguido pelo isolado P-69 (+20,74%) e a coinoculação de B-138 + P-29 (+18,15%), indicando aumento da biomassa por unidade de P aplicado em relação ao controle não inoculado e com 70% de P.

A RE apresentou variação de -6,65 a 6,07, com destaque para cepas B-138 + P-210 (+9,55%), seguido por Ab-V6 + CCTB03 (+6,07%) e Cepa P-58 (+5,76%), sugerindo maior acúmulo de P na parte aérea em comparação ao controle. A PE foi o índice mais variável, com valores extremos, atingindo máximo nos consórcios B-138 + P-69 (+59%) e B-138 + P-29 (+34%) e para cepa (+32%), evidenciando tratamentos que aumentaram a eficiência de utilização interna do P. Ao integrar os três índices (produção, aquisição e utilização), apenas alguns tratamentos promoveram desempenho simultaneamente positivo em AE, RE e PE em milho, destacando-se os com as cepas ATCC 13525 (+17; +1; +11%), cepa P-69 (+21; +1,4; +12%) e CCT8089 + P-210 (+13; +1,6; +3,8%) como os perfis mais “equilibrados”.

**Tabela 11.** Eficiência agrônômica, de recuperação e fisiológica (AE, RE e PE, respectivamente) do fósforo (P) pelo milho e pela soja sob adubação com 70% de P com inoculação de bactérias solubilizadoras de fosfato, expressas como variação percentual em relação ao controle não inoculado, com 70% de P.

| Tratamentos         | Milho  |       |        | Soja  |       |       |
|---------------------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|
|                     | AE     | RE    | PE     | AE    | RE    | PE    |
| ATCC 13525          | 16,88  | 0,98  | 10,77  | 12,58 | 1,10  | 6,49  |
| BRM 119 + BRM 2084  | 3,72   | 6,07  | -22,77 | 6,34  | 0,56  | 3,31  |
| CCT8089             | -5,53  | 0,03  | -5,71  | 4,58  | -1,11 | 11,00 |
| Cepa B-138          | 15,24  | -2,25 | 32,00  | 8,90  | 1,09  | 3,09  |
| Cepa B-143          | 1,40   | 0,29  | -0,21  | 1,77  | -0,09 | 2,23  |
| Cepa P-58           | 5,73   | 5,76  | -20,22 | 8,99  | 1,73  | 0,02  |
| Cepa P-210          | -10,48 | -0,30 | -8,94  | 11,28 | 0,23  | 10,00 |
| Cepa P-29           | -9,22  | 3,41  | -23,89 | 9,62  | 1,34  | 2,49  |
| Cepa P-69           | 20,74  | 1,36  | 12,10  | 2,83  | 0,69  | -0,70 |
| Cepas B-138 + P-58  | 1,80   | 2,03  | -8,66  | 7,62  | -0,39 | 9,83  |
| Cepas B-138 + P-210 | 24,40  | 9,55  | -19,20 | -6,80 | -3,80 | 16,10 |
| Cepas B-138 + P-29  | 18,15  | -2,06 | 33,68  | 10,32 | 0,46  | 7,77  |
| Cepa B-138 + P-69   | -0,75  | -6,65 | 59,01  | 1,21  | -0,02 | 1,29  |
| Cepas B-143 + P-58  | 17,57  | -1,89 | 31,58  | 2,82  | 1,52  | -4,72 |
| Cepas B-143 + P-210 | 4,54   | 0,87  | -0,37  | 5,24  | 0,46  | 2,77  |
| Cepas B-143 + P-29  | 3,51   | 3,22  | -12,41 | 11,52 | 0,70  | 7,59  |
| Cepa B-143 + P-69   | -7,69  | 0,37  | -9,56  | -4,30 | -1,59 | 4,30  |
| CCT8089 + P-58      | -2,03  | 2,00  | -11,99 | -2,43 | -1,94 | 8,51  |
| CCT8089 + P-210     | 13,24  | 1,60  | 3,83   | 10,68 | 1,29  | 3,74  |
| CCT8089 + P-29      | 11,82  | -1,33 | 20,89  | -2,11 | -2,82 | 14,68 |
| CCT8089 + P-69      | -2,65  | -3,42 | 20,69  | 6,89  | -0,59 | 10,24 |

Em soja, a resposta foi mais consistente para AE e, sobretudo, para PE, com AE% variando de -6,8 a +13%. Os maiores incrementos em AE% foram observados em ATCC 13525 (+13%), Cepas B-143 + P-29 (+11%) e Cepa P-210 (+11%), demonstrando ganhos na biomassa por unidade de P aplicado sob 70% de adubação fosfatada. Para RE, os incrementos foram, em geral, menores em soja (máximo de

+1,7%), com destaque para Cepa P-58 (+1,7%), Cepas B-143 + P-58 (+1,5%) e Cepa P-29 (+1,3%). Em contraste, PE apresentou maior predominância de valores positivos, atingindo o máximo com as Cepas B-138 + P-210 (+16,%), seguido por CCT8089 + P-29 (+15%) e CCT8089 (+11%), evidenciando tratamentos com cepas que favoreceram a conversão de P em biomassa pela planta. A avaliação conjunta (AE, RE e PE) em soja indicou um conjunto amplo de tratamentos com desempenho simultaneamente positivo (perfil integrado), destacando-se ATCC 13525 (+13; +1,10; +6,5%), Cepas B-143 + P-29 (+11; +0,7; +7,6%), Cepa P-210 (+11; +0,2; +10%), CCT8089 + P-210 (+11; +1,3; +3,7%) e Cepas B-138 + P-29 (+10; +0,5; +7,8%) como os tratamentos mais consistentes em produtividade relativa, aquisição e utilização de P.

Em conjunto, os resultados evidenciam que a inoculação modulou de forma diferenciada os componentes de eficiência do P entre as culturas. Em milho, a variabilidade foi mais acentuada, com trade-offs frequentes entre aquisição (RE) e utilização (PE), o que reforça a necessidade de selecionar tratamentos com desempenho “integrado” (AE%+RE%+PE% positivos), como ATCC 13525, Cepa P-69 e CCT8089 + P-210. Em soja, os ganhos foram mais consistentes para AE e especialmente para PE, enquanto RE apresentou incrementos de menor magnitude. Ainda assim, um conjunto de tratamentos apresentou resposta integrada, com destaque para ATCC 13525, Cepas B-143 + P-29, Cepa P-210, CCT8089 + P-210 e Cepas B-138 + P-29. Considerando simultaneamente as duas culturas, ATCC 13525 e CCT8089 + P-210 se sobressaem por apresentarem incrementos positivos em AE, RE e PE tanto em milho quanto em soja, indicando maior robustez do desempenho sob condição de 70% de P.

## 5 DISCUSSÃO

Os microrganismos do solo têm sido amplamente utilizados na agricultura como solubilizadores de fosfato e promotores de crescimento vegetal, com destaque para os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*, reconhecidos por sua capacidade de disponibilização de nutrientes e promotores de crescimento vegetal (Gutierrez-Albanchez et al., 2021; Mosela et al., 2022; Silva et al., 2023). Esses dois gêneros são versáteis, amplamente distribuídos em diferentes ambientes e reconhecidos pela elevada diversidade metabólica, o que explica sua recorrente utilização em estudos voltados à promoção do crescimento vegetal e solubilização de fosfatos. Esses microrganismos apresentam múltiplos mecanismos de ação, atuando tanto de forma direta quanto indireta sobre o desenvolvimento das plantas. No Brasil são amplamente utilizados, mas com poucos estudos relacionados ao seu uso em consórcio.

No presente estudo, os resultados obtidos evidenciam que alguns isolados dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* apresentam elevado potencial promotores de crescimento vegetal e solubilizadores de fosfato, sendo capazes de atenuar os efeitos da redução da adubação fosfatada em 30% nas culturas de milho e soja. A integração entre as caracterizações *in vitro* e os ensaios em casa de vegetação permitiu associar atributos funcionais dos isolados às respostas agrônômicas observadas e condições controladas.

Os isolados de *Bacillus* spp. destacaram-se *in vitro* por apresentarem atributos associados à tolerância a estresses abióticos, antagonismo a fitopatógenos e compatibilidade com microrganismos simbióticos, em concordância com Bayisa (2023) e De Oliveira-Paiva et al. (2024). Em casa de vegetação, esses isolados promoveram incrementos consistentes em MSR, MSPA e MST, com destaque para B-135, B-138 e B-143, indicando capacidade de compensar a redução da adubação fosfatada. Esse efeito está provavelmente relacionado à capacidade de solubilização de fosfato associada ao estímulo ao crescimento radicular, conforme observado por Mosela et al. (2022), que atribuíram o aumento de biomassa à ação conjunta da produção de AIA, maior disponibilidade de fósforo via fosfatases/fitase e à produção de metabólitos antimicrobianos.

Os isolados de *Pseudomonas* spp. apresentaram, *in vitro*, perfil funcional voltado principalmente à mobilização de nutrientes e à regulação hormonal do crescimento vegetal. A produção universal de AIA, com ampla variação entre isolados,

indica diversidade metabólica e potencial diferencial de estímulo ao desenvolvimento radicular, enquanto o baixo antagonismo entre as cepas e cepas comerciais de *Bradyrhizobium* spp. e *Azospirillum brasilense*, sugere que o principal mecanismo funcional esteja associado à promoção de crescimento de plantas via aumento da disponibilidade e absorção de fosfato e produção de fitormônios. Em casa de vegetação, diversos isolados promoveram incrementos em MSR, MSPA e MST sob adubação reduzida de fósforo a 70%. No milho, P-69 destacou-se por promover a MST, com maior desenvolvimento radicular também observado para P-73, P-207 e P-58. Na soja, isolados como P-24, P-113, P-210, P-58 e P-211 promoveram desempenho semelhante às plantas do controle com adubação completa, evidenciando potencial para otimizar o uso de fertilizantes e promover o crescimento vegetal. Oteino et al., (2015) demonstraram que isolados de *Pseudomonas* solubilizadores de fosfato promovem o crescimento vegetal principalmente por aumentar a disponibilidade de P em condições limitantes, associado à produção de ácidos orgânicos, como o ácido glucônico, e ao estímulo ao desenvolvimento do sistema radicular pela produção de fitormônios, resultando em maior eficiência na absorção de nutrientes.

A análise filogenética baseada no gene 16S rRNA indicou que os isolados de *Bacillus* selecionados se agrupam no complexo *Bacillus amyloliquefaciens*, que inclui espécies próximas como *B. velezensis* e *B. siamensis*. Além do posicionamento filogenético as espécies desse complexo são amplamente reconhecidas por sua atuação na promoção do crescimento vegetal, solubilização de fosfato e biocontrole, reforçando o potencial funcional das cepas avaliadas (Dunlap et al., 2016; Rabbee et al., 2019). Em contraste, posicionamento filogenético dos isolados de *Pseudomonas* mostrou-se mais desafiador devido à elevada diversidade genética e à limitada capacidade discriminatória do gene ribossomal 16S dentro do gênero, o que dificulta a delimitação precisa de espécies, sendo assim, abordagens complementares como MLSA ou análises genômicas são recomendadas para melhor resolução taxonômica destes isolados (Hesse et al., 2018; Mulet; Lalucat; García-Valdés, 2010).

Os ensaios de compatibilidade *in vitro* evidenciaram padrões distintos de interação entre isolados de *Bacillus* e *Pseudomonas*, destacando que a ocorrência de antagonismo em condições laboratoriais nem sempre se traduz em efeitos negativos em ambiente de cultivo a campo. Essa constatação justifica a validação dos consórcios em casa de vegetação, onde fatores como exsudatos radiculares,

competição por nichos e disponibilidade de nutrientes modulam as interações microbianas.

A produção de ácidos orgânicos pelos isolados microbianos, identificada neste estudo via HPLC, reforça o papel metabólico dessas linhagens na solubilização de diferentes formas de fosfatos minerais. A análise revelou que o ácido glucônico foi o composto majoritário na maioria dos isolados, independentemente da fonte de fósforo (Al-P, Fe-P ou Ca-P). Esse padrão de predominância do ácido glucônico é amplamente documentado na literatura como um dos principais mecanismos para converter fosfato insolúvel em formas acessíveis às plantas (Pang et al., 2024). A secreção desses ácidos orgânicos de baixo peso molecular promove a solubilização por meio da acidificação do meio e do fornecimento de ânions orgânicos que competem pelos sítios de adsorção nas partículas do solo, reduzindo a fixação do fósforo. Esses compostos atuam como agentes quelantes, utilizando seus grupos hidroxila e carboxila para formar complexos com cátions metálicos (como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ ), liberando o fosfato para a absorção. (Massucato et al., 2022; Mosela et al., 2022; Pang et al., 2024; Serna Posso; Sánchez de Prager; Cisneros Rojas, 2017)

A coinoculação de isolados revelou interações sinérgicas capazes de potencializar a promoção de crescimento vegetal, especialmente no milho, em que combinações como B-138 + P-29 e B-138 + P-210 apresentaram os maiores incrementos de MST. Consórcios microbianos têm demonstrado maior estabilidade funcional e eficiência agrônômica em comparação a inoculantes simples, devido à complementaridade metabólica e à ocupação de nichos ecológicos distintos (Luo et al., 2024; Santoyo et al., 2021; Singh et al., 2023). Na soja, os efeitos do consórcio foram mais discretos, possivelmente devido à maior complexidade das interações microbiológicas na rizosfera dessa cultura e à presença da simbiose com rizóbios. Ainda assim, incrementos observados em MSR e MSPA indicam que a coinoculação pode contribuir para a eficiência nutricional das culturas sob condições limitantes de fósforo.

A inoculação alterou os componentes da eficiência de uso do fósforo, permitindo maior produção vegetal mesmo sob 70% de adubação fosfatada. No milho, a variação entre AE, RE e PE sugere atuação por múltiplos mecanismos, incluindo solubilização de fosfatos e otimização do uso interno do nutriente. Em soja, os ganhos mais consistentes em AE e, principalmente, em PE, indicam maior eficiência fisiológica na conversão do P absorvido em biomassa vegetal. O melhor desempenho

de consórcios reforça a complementaridade funcional entre *Bacillus* e *Pseudomonas*, capazes de ampliar a aquisição e a utilização de P pela planta e aumentar a estabilidade do sistema solo-planta (Santoyo et al., 2021; Sharma et al., 2013; Veneklaas et al., 2012; Verma et al., 2024). Assim, os resultados confirmam o potencial de inoculantes microbianos para aumentar a eficiência do uso de fósforo e reduzir a dependência de fertilizantes fosfatados

Os isolados avaliados possuem elevado potencial para uso como inoculantes agrícolas sustentáveis, contribuindo para a redução do uso de fertilizantes fosfatados e para aumentar a eficiência nutricional das culturas de milho e soja. A utilização de microrganismos multifuncionais representa estratégia promissora para sistemas agrícolas mais sustentáveis, especialmente em solos tropicais com alta capacidade de fixação de fósforo (Pavinato et al., 2020; Sharma et al., 2013).

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo confirmam o elevado potencial biotecnológico de isolados dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* para a solubilização de P e promoção do crescimento das culturas do milho e da soja. A caracterização *in vitro* demonstrou que diversas cepas apresentam mecanismos relevantes de promoção de crescimento, incluindo solubilização de fosfatos minerais e produção de AIA, além da produção de ácidos orgânicos, com predominância do ácido glucônico, indicando sua atuação direta na disponibilização do fósforo fixado no solo.

Em condições de casa de vegetação, a inoculação com cepas de *Bacillus* promoveu incrementos consistentes na massa seca radicular e da parte aérea do milho, mesmo sob redução da adubação fosfatada, evidenciando maior eficiência na aquisição e utilização do fósforo. As cepas de *Pseudomonas* também apresentaram desempenho agrônomo relevante, promovendo aumento da biomassa e do desenvolvimento radicular nas culturas avaliadas, com isolados capazes de manter desempenho semelhante ao controle com adubação completa, mesmo sob 70% da adubação.

Os testes de compatibilidade indicaram ausência de antagonismo relevante entre os isolados selecionados e espécies comerciais empregadas em inoculantes, possibilitando sua utilização em consórcios microbianos. A coinoculação de *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. resultou em efeitos sinérgicos sobre o crescimento vegetal, evidenciando complementaridade funcional entre os microrganismos e promovendo maior eficiência na aquisição de fósforo.

O uso de consórcios microbianos constitui uma estratégia promissora para aumentar a eficiência no uso do fósforo, reduzir a dependência de fertilizantes fosfatados e contribuir para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas. Estudos futuros em condições de campo são recomendados para validar o desempenho agrônomo das cepas selecionadas e viabilizar sua aplicação em escala comercial.

## 7 REFERÊNCIAS

AHMAD, Munir *et al.* Aging Effects of Organic and Inorganic Fertilizers on Phosphorus Fractionation in a Calcareous Sandy Loam Soil. **Pedosphere**, v. 28, n. 6, p. 873–883, 1 dez. 2018.

AHMAD, Munir *et al.* Aging Effects of Organic and Inorganic Fertilizers on Phosphorus Fractionation in a Calcareous Sandy Loam Soil. **Pedosphere**, v. 28, n. 6, p. 873–883, 1 dez. 2018.

ALSAEDI, Z. S. *et al.* Metagenomic study of the communities of bacterial endophytes in the desert plant *Senna Italica* and their role in abiotic stress resistance in the plant. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, n. 2, p. e267584, 2 dez. 2022.

AMRI, Marwa *et al.* Isolation, Identification, and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria from Tunisian Soils. **Microorganisms**, v. 11, n. 3, p. 783, 18 mar. 2023.

ANDA. **Estatísticas Indicadores: Principais Indicadores do Sector de Fertilizantes, 2017.**

ANDRADE, Brisa Marina da silva *et al.* Technical efficiency of forage production from residues of green corn (*Zea mays* L.) in Sergipe, Brazil. **Revista Brasileirade Ciencias Agrarias**, v. 18, n. 2, 2023.

ANTOLIN, Luís A. S.; HEINEMANN, Alexandre B.; MARIN, Fábio R. Impact assessment of common bean availability in Brazil under climate change scenarios. **Agricultural Systems**, v. 191, p. 103174, 1 jun. 2021.

ARNAOUTELI, Sofia *et al.* *Bacillus subtilis* biofilm formation and social interactions. **Nature Reviews Microbiology** 2021 19:9, v. 19, n. 9, p. 600–614, 6 abr. 2021.

ASA. AMERICAN SOYBEAN ASSOCIATION. Soy Stats: A reference guide to important soybean facts and figures. St. Louis: American Soybean Association, 2018. Disponível em: <https://soystats.com>

BACKER, Rachel *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 871, p. 402666, 23 out. 2018.

BASHA, Saleem; ULAGANATHAN, Kandasamy. Antagonism of *Bacillus* Species (Strain BC121) towards *Curvularia Lunata*. **Current Science**, v. 82, p. 1457–63, 2002.

BATISTA, Layane Alexandre *et al.* Desempenho agrônômico da cultura da soja submetida a diferentes soluções nutricionais. **Revista Brasileira de Pulverização Agrícola**, p. 47–55, 2024.

BELBAHRI, Lassaad *et al.* Comparative genomics of *Bacillus amyloliquefaciens* strains reveals a core genome with traits for habitat adaptation and a secondary metabolites rich accessory genome. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. AUG, p. 281509, 3 ago. 2017.

BENDER, Ross R. *et al.* Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern, transgenic insect-protected maize hybrids. **Agronomy Journal**, v. 105, n. 1, p. 161–170, 2013.

BENDER, Ross R.; HAEGELE, Jason W.; BELOW, Frederick E. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern soybean varieties. **Agronomy Journal**, v. 107, n. 2, p. 563–573, 1 mar. 2015.

BENITES, Vinicius de Melo. **Tecnologia em fertilizantes no Brasil. EMBRAPA**, 2015. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1031679/1/2015101.pdf>>. Acesso em: 12 maio. 2025

BILLAH, Motsim *et al.* Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: Keys for sustainable agriculture. **Geomicrobiology Journal**, v. 36, n. 10, p. 904–916, 26 nov. 2019.

BRASIL. **Plano Nacional de Fertilizantes 2022–2050**. Brasília: [S.n.].

BÜNEMANN, Else Katrin. Assessment of gross and net mineralization rates of soil organic phosphorus – A review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 89, p. 82–98, 1 out. 2015.

CALDANA, Nathan Felipe da Silva *et al.* Zoneamento agrícola de risco climático da bananeira (musa sp) na Bacia Hidrográfica do Rio Paraná 3. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 14, n. 1, p. 407–419, 14 abr. 2021.

CAMARGO, Monica Sartori de *et al.* Fósforo em solos de cerrado submetidos à calagem. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 187–194, 23 mar. 2010.

CHENG, Yingying *et al.* **Phosphate-solubilizing bacteria: Their agroecological function and optimistic application for enhancing agro-productivity**. **Science of the Total Environment** Elsevier B.V., , 25 nov. 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2024/25 – boletim da safra de grãos. Brasília, DF: CONAB, 2025. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras>

CORRÊA, Juliano Corulli; MAUAD, Munir; ROSOLEM, Ciro Antônio. Fósforo no solo e desenvolvimento de soja influenciados pela adubação fosfatada e cobertura vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1231–1237, 2004.

DE OLIVEIRA-PAIVA, Christiane Abreu *et al.* Inoculation with *Bacillus megaterium* CNPMS B119 and *Bacillus subtilis* CNPMS B2084 improve P-acquisition and maize yield in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024.

DE SOUSA, Sylvia Morais *et al.* Tropical *Bacillus* Strains Inoculation Enhances Maize Root Surface Area, Dry Weight, Nutrient Uptake and Grain Yield. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, n. 2, p. 867–877, 29 abr. 2021.

DE ZUTTER, Noémie *et al.* Shifts in the rhizobiome during consecutive in planta enrichment for phosphate-solubilizing bacteria differentially affect maize P status. **Microbial Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 1594–1612, 1 jul. 2021.

DE ZUTTER, Noémie *et al.* Innovative Rhizosphere-Based Enrichment under P-Limitation Selects for Bacterial Isolates with High-Performance P-Solubilizing Traits. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 6, 21 dez. 2022.

DISSANAYAKA, D. M. S. B. *et al.* Recent insights into the metabolic adaptations of phosphorus-deprived plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 2, p. 199–223, 2 fev. 2021.

DU, Wenkai *et al.* Identification of loci and candidate gene GmSPX-RING1 responsible for phosphorus efficiency in soybean via genome-wide association analysis. **BMC Genomics**, v. 21, n. 1, p. 1–16, 1 dez. 2020.

DUNLAP, Christopher A. *et al.* *Bacillus velezensis* is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and ‘*Bacillus oryzicola*’ are later heterotypic synonyms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 1212–1217, 1 mar. 2016.

ETESAMI, Hassan; JEONG, Byoung Ryong; GLICK, Bernard R. Biocontrol of plant diseases by *Bacillus* spp. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 126, p. 102048, 1 jul. 2023.

FAGERIA, N. K.; DA COSTA, J. G. C. Evaluation of common bean genotypes for phosphorus use efficiency. **Journal of Plant Nutrition**, v. 23, n. 8, p. 1145–1152, ago. 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Soybean: crop information. Rome: FAO. Disponível em: <https://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/soybean/en/>

FELIPE, Nathan; CALDANA, Silva. Rainfall Variability and Analysis of Droughts Periods Risks During the Soybean Crop (*Glycine max* L.) in the Western of Paraná State, Brazil. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 27, p. 590–611, 2020.

FRITSCHÉ-NETO, Roberto; DOVALE, Júlio César. Breeding for Stress-Tolerance or Resource-Use Efficiency? **Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance**, v. 9783642305535, p. 13–19, 1 jul. 2012.

FRITZ, Leila Lucia *et al.* Frequência de *Bacillus* spp. em solos de diferentes sistemas de cultivo de arroz irrigado em Cachoeirinha, RS. **Bragantia**, v. 69, n. 2, p. 405–412, 2010.

GALETTO, Shively Los *et al.* Grain crops and forage yield resulting from the use of phosphates in integrated production system. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 5, p. 931–945, 2014.

GAO, Shujuan *et al.* Integration of the transcriptome and metabolome reveals the mechanism of resistance to low phosphorus in wild soybean seedling leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 194, p. 406–417, 1 jan. 2023.

GATIBONI, Luciano C.; CONDRON, Leo M. A rapid fractionation method for assessing key soil phosphorus parameters in agroecosystems. **Geoderma**, v. 385, p. 114893, 1 mar. 2021.

GIORDANO, Maria; PETROPOULOS, Spyridon A.; ROUPHAEL, Youssef. Response and Defence Mechanisms of Vegetable Crops against Drought, Heat and Salinity Stress. **Agriculture 2021, Vol. 11, Page 463**, v. 11, n. 5, p. 463, 19 maio 2021.

GIROTO, Amanda S. *et al.* Role of Slow-Release Nanocomposite Fertilizers on Nitrogen and Phosphate Availability in Soil. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 13 abr. 2017.

GOJON, Alain; NACRY, Philippe; DAVIDIAN, Jean Claude. Root uptake regulation: a central process for NPS homeostasis in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 328–338, 1 jun. 2009.

GOMES, Eliane Aparecida *et al.* Potencial de Microrganismos para a Solubilização de Fosfatos de Rocha . **EMBRAPA Milho e Sorgo**, 2014.

GOSWAMI, Dweipayan *et al.* Delineating Kocuria turfanensis 2M4 as a credible PGPR: A novel IAA-producing bacteria isolated from saline desert. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, n. 1, p. 566–576, 2014.

GOSWAMI, Dweipayan; THAKKER, Janki N.; DHANDHUKIA, Pinakin C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, 31 dez. 2016.

GOTZ, Lenir Fátima *et al.* Assessment of phosphorus use and availability by contrasting crop plants in a tropical soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 60, n. 5, p. 603–612, 22 jul. 2024.

GUELF, Douglas *et al.* Innovative Phosphate Fertilizer Technologies to Improve Phosphorus Use Efficiency in Agriculture. **Sustainability 2022, Vol. 14, Page 14266**, v. 14, n. 21, p. 14266, 1 nov. 2022.

GUIMARÃES, Francisco Vandeir; KLEIN, Jeferson; KLEIN, Débora Kestring. Promoção de crescimento e solubilização de fosfato na cultura da soja: coinoculação de sementes com Bradyrhizobium japonicum e Pseudomonas fluorescens. **REVISTA DELOS**, v. 16, n. 46, p. 2164–2199, 5 set. 2023.

GUIMARÃES, Vandeir Francisco; KLEIN, Jeferson; KLEIN, Débora Kestring. Promoção de crescimento e solubilização de fosfato na cultura da soja: coinoculação

de sementes com *Bradyrhizobium japonicum* e *Pseudomonas fluorescens*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e366101120078, 3 set. 2021.

GUO, Zilong *et al.* A natural uORF variant confers phosphorus acquisition diversity in soybean. **Nature Communications** **2022 13:1**, v. 13, n. 1, p. 1–14, 1 jul. 2022.

GUTIERREZ-ALBANCHEZ, Enrique *et al.* *Pseudomonas palmensis* sp. nov., a Novel Bacterium Isolated From *Nicotiana glauca* Microbiome: Draft Genome Analysis and Biological Potential for Agriculture. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 672751, 20 ago. 2021.

HAN, Yang; WHITE, Philip J.; CHENG, Lingyun. **Mechanisms for improving phosphorus utilization efficiency in plants**. **Annals of Botany** Oxford University Press, , 16 fev. 2022.

HASANUZZAMAN, Mirza; NAHAR, Kamrun; FUJIT, Masayuki. Extreme Temperature Responses, Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Plants. *In: Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture*. [S.l.]: InTech, 2013.

HE, Xianjin *et al.* Global patterns and drivers of soil total phosphorus concentration. **Earth System Science Data**, v. 13, n. 12, p. 5831–5846, 20 dez. 2021.

HELFENSTEIN, Julian *et al.* **Understanding soil phosphorus cycling for sustainable development: A review**. **One Earth** Cell Press, , 18 out. 2024.

HESSE, Cedar *et al.* Genome-based evolutionary history of *Pseudomonas* spp. **Environmental Microbiology**, v. 20, n. 6, p. 2142–2159, 22 jun. 2018.

HU, Dandan *et al.* The Myb73–GDPD2–GA2ox1 transcriptional regulatory module confers phosphate deficiency tolerance in soybean. **The Plant Cell**, v. 36, n. 6, p. 2176–2200, 29 maio 2024.

HU, Xiufang; CHEN, Jishuang; GUO, Jiangfeng. Two Phosphate- and Potassium-solubilizing Bacteria Isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 9, p. 983–990, 14 set. 2006.

HUANG, Mengmeng *et al.* *Bacillus firmus* I-1582 promotes plant growth and impairs infection and development of the cyst nematode *Heterodera schachtii* over two generations. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2021.

JEYANTHI, V.; KANIMOZHI, S. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)-prospective and mechanisms: A review. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 733–749, 1 jun. 2018.

JHA, Uday Chand *et al.* Breeding and genomics approaches for improving phosphorus-use efficiency in grain legumes. **Environmental and Experimental Botany**, v. 205, p. 105120, jan. 2023.

KAFLE, Arjun *et al.* Harnessing Soil Microbes to Improve Plant Phosphate Efficiency in Cropping Systems. **Agronomy 2019, Vol. 9, Page 127**, v. 9, n. 3, p. 127, 8 mar. 2019.

KAUR, Harshpreet; GERA, Rajesh. **Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas: Uma Vantagem para a Agricultura | Solicitar PDF**. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/357885974\\_Plant\\_Growth\\_Promoting\\_Rhizobacteria\\_A\\_Boon\\_to\\_Agriculture](https://www.researchgate.net/publication/357885974_Plant_Growth_Promoting_Rhizobacteria_A_Boon_to_Agriculture)>. Acesso em: 13 maio. 2025.

KHAN, Adil *et al.* Silicon and Gibberellins: Synergistic Function in Harnessing ABA Signaling and Heat Stress Tolerance in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Plants 2020, Vol. 9, Page 620**, v. 9, n. 5, p. 620, 13 maio 2020.

KHAN, Aimen Razzaq *et al.* ***Bacillus* spp. as Bioagents: Uses and Application for Sustainable Agriculture**. **BiologyMDPI**, , 1 dez. 2022.

KONG, Zhaoyu; HART, Miranda; LIU, Hongguang. **Paving the way from the lab to the field: Using synthetic microbial consortia to produce high-quality crops.** *Frontiers in Plant Science* Frontiers Media S.A., , 5 out. 2018.

KRUSE, Jens *et al.* Innovative methods in soil phosphorus research: A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v. 178, n. 1, p. 43–88, 1 fev. 2015.

LAMBERS, Hans. Phosphorus Acquisition and Utilization in Plants. 2022.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Exportações do agronegócio fecham 2023 com US\$ 166,55 bilhões em vendas. Portal MAPA, 2024. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/2024/exportacoes-do-agronegocio-fecham-2023-com-us-166-55-bilhoes-em-vendas?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/2024/exportacoes-do-agronegocio-fecham-2023-com-us-166-55-bilhoes-em-vendas?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 03 fev. 2026

LI, Xinxin; ZENG, Rensen; LIAO, Hong. Improving crop nutrient efficiency through root architecture modifications. *Journal of Integrative Plant Biology*, v. 58, n. 3, p. 193–202, 1 mar. 2016.

LORETO, Rafaela Bueno; DA SILVA, Santino Aleandro; MACHADO, Andressa Cristina Zamboni. Management of *Rotylenchulus reniformis* in soybean using genetic and biological approaches. *Tropical Plant Pathology*, v. 49, n. 6, p. 921–927, 1 dez. 2024.

LUO, Dan *et al.* Consortium of Phosphorus-Solubilizing Bacteria Promotes Maize Growth and Changes the Microbial Community Composition of Rhizosphere Soil. *Agronomy*, v. 14, n. 7, p. 1535, 15 jul. 2024.

LURTHY, Tristan *et al.* **Importance of the Rhizosphere Microbiota in Iron Biofortification of Plants.** *Frontiers in Plant Science* Frontiers Media S.A., , 3 dez. 2021.

LYNCH, Jonathan P. Root phenotypes for improved nutrient capture: an underexploited opportunity for global agriculture. **New Phytologist**, v. 223, n. 2, p. 548–564, 1 jul. 2019.

MADISON, Imani *et al.* **Phosphate starvation: response mechanisms and solutions.** **Journal of Experimental Botany** Oxford University Press, , 21 nov. 2023.

#### MAPA.

MÁRCIO DE CAMPOS MARTINS DE FREITAS. **A CULTURA DA SOJA NO BRASIL: O CRESCIMENTO DA PRODUÇÃO BRASILEIRA E O SURGIMENTO DE UMA NOVA FRONTEIRA AGRÍCOLA.** goiânia: [S.n.].

MASOULEH, Seyedeh Somayyeh Shafiei; ALDINE, Narjes Jamal; SASSINE, Youssef Najib. The role of organic solutes in the osmotic adjustment of chilling-stressed plants (vegetable, ornamental and crop plants). **Ornamental Horticulture**, v. 25, n. 4, p. 434–442, 24 jan. 2020.

MASSUCATO, Luana Rainieri *et al.* Efficiency of Combining Strains Ag87 (*Bacillus megaterium*) and Ag94 (*Lysinibacillus* sp.) as Phosphate Solubilizers and Growth Promoters in Maize. **Microorganisms**, v. 10, n. 7, 1 jul. 2022.

MATTÉ, Marina Fabris *et al.* Soybean nutrient uptake under compaction levels. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, p. e43101623515–e43101623515, 5 dez. 2021.

MEHMOOD, Najaf *et al.* Multifaceted Impacts of Plant-Beneficial *Pseudomonas* spp. in Managing Various Plant Diseases and Crop Yield Improvement. **ACS Omega**, v. 8, n. 25, p. 22296–22315, 27 jun. 2023.

MILJAKOVIĆ, Dragana; MARINKOVIĆ, Jelena; BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, Svetlana. **The significance of bacillus spp. In disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops.** **Microorganisms** MDPI AG, , 1 jul. 2020.

MISHRA, Swarup *et al.* Plants Under Stress: Exploring Physiological and Molecular Responses to Nitrogen and Phosphorus Deficiency. **Plants** **2024**, Vol. **13**, Page **3144**, v. 13, n. 22, p. 3144, 8 nov. 2024.

MOLINA-ROMERO, Dalia *et al.* Compatible bacterial mixture, tolerant to desiccation, improves maize plant growth. **PLoS ONE**, v. 12, n. 11, 1 nov. 2017.

MONNERAT, Rose *et al.* **Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero Bacillus para uso na agricultura.** EMBRAPA, 2020. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1122563/1/documentos-36916.pdf>>. Acesso em: 13 maio. 2025

MOSELA, Mirela *et al.* Bacillus velezensis strain Ag75 as a new multifunctional agent for biocontrol, phosphate solubilization and growth promotion in maize and soybean crops. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2022.

MULET, Magdalena; LALUCAT, Jorge; GARCÍA-VALDÉS, Elena. DNA sequence-based analysis of the *Pseudomonas* species. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 6, p. 1513–1530, 3 jun. 2010.

MWENDE MUINDI, Esther. Understanding Soil Phosphorus. **International Journal of Plant & Soil Science**, p. 1–18, 25 dez. 2019.

NAKATANI, André Shigueyoshi *et al.* Consórcio de Azospirillum e Pseudomonas aumenta o desenvolvimento vegetal e produtividade da cultura da soja. **REVISTA DELOS**, v. 17, n. 62, p. e3176, 12 dez. 2024.

NAUTIYAL, C. Shekhar. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 170, n. 1, p. 265–270, jan. 1999.

NOVAIS, R. F.; SMYTH, t. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais.** [S.l.]: Universidade Federal de Viçosa, 1999.

ÖĞÜT, Mehmet; ER, Fatih; NEUMANN, Günter. Increased proton extrusion of wheat roots by inoculation with phosphorus solubilising microorganisms. **Plant and Soil**, v. 339, n. 1–2, p. 285–297, 30 fev. 2011.

OJEDA-RIVERA, Jonathan Odilón *et al.* **Prospects of genetics and breeding for low-phosphate tolerance: an integrated approach from soil to cell. Theoretical and Applied Genetics** Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, , 1 nov. 2022.

OLANREWAJU, Oluwaseyi Samuel; BABALOLA, Olubukola Oluranti. Bacterial consortium for improved maize (*Zea mays* L.) production. **Microorganisms**, v. 7, n. 11, 1 nov. 2019.

OTEINO, Nicholas *et al.* Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 22 jul. 2015.

PAN, Lin; CAI, Baiyan. **Phosphate-Solubilizing Bacteria: Advances in Their Physiology, Molecular Mechanisms and Microbial Community Effects. Microorganisms** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 dez. 2023.

PANG, Fei *et al.* Soil phosphorus transformation and plant uptake driven by phosphate-solubilizing microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1383813, 27 mar. 2024.

PAVINATO, Paulo S. *et al.* Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

PAVINATO, Paulo S. *et al.* Legacy soil phosphorus bioavailability in tropical and temperate soils: Implications for sustainable crop production. **Soil and Tillage Research**, v. 244, 1 dez. 2024.

PINHEIRO, Luana da Silva *et al.* Características agro econômicas do milho: uma revisão. **Natural Resources**, v. 11, n. 2, p. 13–21, 12 abr. 2021.

RABBEE, Muhammad Fazle *et al.* Bacillus velezensis: A Valuable Member of Bioactive Molecules within Plant Microbiomes. **Molecules**, v. 24, n. 6, p. 1046, 16 mar. 2019.

RAJAWAT, Mahendra Vikram Singh *et al.* A Modified Plate Assay for Rapid Screening of Potassium-Solubilizing Bacteria. **Pedosphere**, v. 26, n. 5, p. 768–773, out. 2016.

RAMÍREZ, Ana Maria Higueta; RIVILLAS, Ana Maria Restrepo; POSADA, Luisa F. **Desarrollo de un bioinsumo agrícola con base en un consorcio de Bacillus subtilis- Pseudomonas sp. [S.l.: S.n.]**.

RAMÍREZ-ESPARZA, Ulises *et al.* **Recent Advances in the Extraction and Characterization of Bioactive Compounds from Corn By-Products. Antioxidants** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 set. 2024.

RIBEIRO, Gustavo Soares *et al.* Agronomic Efficiency of Phosphorus Fertilizers With Associate Technology in Soy Crop in Cerrado Soil. **Journal of Agricultural Science**, v. 13, n. 10, p. p61, 15 set. 2021.

RICHARDSON, Alan E.; SIMPSON, Richard J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. **Plant Physiology**, v. 156, n. 3, p. 989–996, 2011.

RODRIGUES, Marcos *et al.* Legacy phosphorus and no tillage agriculture in tropical oxisols of the Brazilian savanna. **Science of The Total Environment**, v. 542, p. 1050–1061, jan. 2016.

ROJAS-SOLIS, Daniel; HERNANDEZ-PACHECO, Claudia E.; SANTOYO, Gustavo. Evaluation of Bacillus and Pseudomonas to colonize the rhizosphere and their effect on growth promotion in tomato (Physalis ixocarpa Brot. ex Horm.). **Revista Chapingo, Serie Horticultura**, v. 22, n. 1, p. 45–57, 1 jan. 2016.

ROY, Eric D. *et al.* The phosphorus cost of agricultural intensification in the tropics. **Nature Plants**, v. 2, n. 5, 4 maio 2016.

RUIZ-HERNANDEZ, I. H.; MADRIGAL-PEREZ, L. A.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, J. C. The potential use of *Pseudomonas* in terrestrial and space agriculture. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e282664, 5 ago. 2024.

SANDINI, Itacir Eloi *et al.* Bacterial consortium of *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* on the stimulation of growth of corn culture. **Ciencia Rural**, v. 54, n. 9, 2024.

SANTIAGO, Antonio Dias; ROSSETTO, Raffaella. **Adubação mineral**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/correcao-e-adubacao/diagnose-das-necessidades-nutricionais/recomendacao-de-correcao-e-adubacao/adubacao-mineral>>. Acesso em: 12 maio. 2025.

SANTOYO, Gustavo *et al.* Plant Growth Stimulation by Microbial Consortia. **Agronomy**, v. 11, n. 2, p. 219, 24 jan. 2021.

SERNA POSSO, Eduardo José; SÁNCHEZ DE PRAGER, Marina; CISNEROS ROJAS, Carlos Adolfo. Organic acids production by rhizosphere microorganisms isolated from a Typic Melanudands and its effects on the inorganic phosphates solubilization. **Acta Agronómica**, v. 66, n. 2, 1 abr. 2017.

SHARMA, Seema B. *et al.* **Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils**. SpringerPlusSpringerOpen, , 2013.

SILVA, Leandro Israel da *et al.* **Phosphorus-Solubilizing Microorganisms: A Key to Sustainable Agriculture**. **Agriculture (Switzerland)**MDPI, , 1 fev. 2023.

SILVA, Thaís Rayane Gomes da *et al.* Abiotic factors in plant growth and flowering. **Research, Society and Development**, v. 4, p. e19710413817–e19710413817, 6 abr. 2021.

SILVA, Ribeiro da Silva; FERREIRA, Otávio Junior. USO DE ENRAIZADORES NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE HÍBRIDOS DE MILHO. 2024.

SINGH, Anamika *et al.* Enhancing plant growth promoting rhizobacterial activities through consortium exposure: A review. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, 10 fev. 2023.

SINGH, Pratiksha *et al.* **Unlocking the strength of plant growth promoting *Pseudomonas* in improving crop productivity in normal and challenging environments: a review.** *Journal of Plant Interactions* Taylor and Francis Ltd., , 2022.

SOUZA, Rayla Nemis; ROCHA, Rafael Rosa. **Fertilizante de liberação controlada evita perdas de N.** Disponível em: <<https://campoenegocios.com/fertilizante-de-liberacao-controlada-evita-perdas-de-n/>>. Acesso em: 12 maio. 2025.

SUN, Wenli; SHAHRAJABIAN, Mohamad Hesam; SOLEYMANI, Ali. **The Roles of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR)-Based Biostimulants for Agricultural Production Systems.** *Plants* Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 mar. 2024.

TAIZ, Lincoln *et al.* **fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. [S.l.: S.n.].

TAVEIRA, José Henrique da Silva *et al.* IMPORTÂNCIA DOS REMINERALIZADORES NA PRODUÇÃO DE MILHO PARA SILAGEM / IMPORTANCE OF REMINERALIZERS IN THE PRODUCTION OF CORN FOR SILAGE. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 24907–24919, 2021.

TSOTETSI, Teboho *et al.* Bacillus for Plant Growth Promotion and Stress Resilience: What Have We Learned? **Plants 2022, Vol. 11, Page 2482**, v. 11, n. 19, p. 2482, 22 set. 2022a.

TSOTETSI, Teboho *et al.* Bacillus for Plant Growth Promotion and Stress Resilience: What Have We Learned? **Plants 2022, Vol. 11, Page 2482**, v. 11, n. 19, p. 2482, 22 set. 2022b.

VAN DE WIEL, Clemens C. M.; VAN DER LINDEN, C. Gerard; SCHOLTEN, Olga E. **Improving phosphorus use efficiency in agriculture: opportunities for breeding. Euphytica** Springer Netherlands, , 1 jan. 2016.

VANNINI, Candida *et al.* Proteomic analysis reveals how pairing of a Mycorrhizal fungus with plant growth-promoting bacteria modulates growth and defense in wheat. **Plant Cell and Environment**, v. 44, n. 6, p. 1946–1960, 1 jun. 2021.

VEJAN, Pravin *et al.* Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. **Molecules 2016, Vol. 21, Page 573**, v. 21, n. 5, p. 573, 29 abr. 2016a.

VEJAN, Pravin *et al.* Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability—A Review. **Molecules 2016, Vol. 21, Page 573**, v. 21, n. 5, p. 573, 29 abr. 2016b.

VENEKLAAS, Erik J. *et al.* **Opportunities for improving phosphorus-use efficiency in crop plants. New Phytologist**, jul. 2012.

WANG, Wei *et al.* Mapping and cloning of quantitative trait loci for phosphorus efficiency in crops: opportunities and challenges. **Plant and Soil 2018 439:1**, v. 439, n. 1, p. 91–112, 13 jun. 2018.

WARSI, M. K.; HOWLADAR, S. M.; ALSHARIF, M. A. Regulon: An overview of plant abiotic stress transcriptional regulatory system and role in transgenic plants. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e245379, 3 set. 2021.

WEEKS, Joseph J.; HETTIARACHCHI, Ganga M. A Review of the Latest in Phosphorus Fertilizer Technology: Possibilities and Pragmatism. **Journal of Environmental Quality**, v. 48, n. 5, p. 1300–1313, 1 set. 2019.

WITHERS, Paul J. A. *et al.* Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 1 dez. 2018.

YAN, Zheng *et al.* Effect of different *Bacillus* strains on the profile of organic acids in a liquid culture of *Daqu*. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 119, n. 1–2, p. 78–83, set. 2013.

YANG, X. *et al.* The distribution of soil phosphorus for global biogeochemical modeling. **Biogeosciences**, v. 10, n. 4, p. 2525–2537, 15 abr. 2013.

ZHANG, Dan *et al.* The Acid Phosphatase-Encoding Gene GmACP1 Contributes to Soybean Tolerance to Low-Phosphorus Stress. **PLOS Genetics**, v. 10, n. 1, p. e1004061, jan. 2014.

ZHANG, Dan *et al.* Integrating QTL mapping and transcriptomics identifies candidate genes underlying QTLs associated with soybean tolerance to low-phosphorus stress. **Plant Molecular Biology**, v. 93, n. 1–2, p. 137–150, 1 jan. 2017.

ZHANG, Hengyou *et al.* Up-regulating GmETO1 improves phosphorus uptake and use efficiency by promoting root growth in soybean. **Plant Cell and Environment**, v. 43, n. 9, p. 2080–2094, 1 set. 2020.

ZHU, Jing; LI, Min; WHELAN, Mick. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. **Science of The Total Environment**, v. 612, p. 522–537, 15 jan. 2018.

**Tabela S1.** Teste de agrupamento de médias Scott-Knott (1976) para massa seca de raiz, parte aérea e total (MSR, MSPA e MST, respectivamente) em experimento com milho, com sementes inoculados com *Bacillus* sp. solubilizadores de fosfato via tratamento de sementes e sob aplicação de fertilizantes.

| Tratamentos      | MSR           |               |               | MSPA          |               |               | MST            |                |                |
|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
|                  | E1            | E2            | Média         | E1            | E2            | Média         | E1             | E2             | Média          |
| Controle (100%)  | 3,55 <b>a</b> | 3,15 <b>b</b> | 3,35 <b>a</b> | 7,37 <b>a</b> | 6,05 <b>b</b> | 6,71 <b>a</b> | 10,92 <b>a</b> | 9,19 <b>b</b>  | 10.06 <b>a</b> |
| Controle (70%)   | 3,05 <b>b</b> | 3,00 <b>b</b> | 3,02 <b>b</b> | 5,96 <b>b</b> | 6,22 <b>b</b> | 6,09 <b>b</b> | 9,00 <b>b</b>  | 9,23 <b>b</b>  | 9.11 <b>b</b>  |
| CCT8089          | 2,88 <b>b</b> | 3,62 <b>a</b> | 3,25 <b>a</b> | 6,20 <b>b</b> | 6,68 <b>a</b> | 6,44 <b>a</b> | 9,09 <b>b</b>  | 10,30 <b>a</b> | 9.69 <b>a</b>  |
| BRM119 + BRM2084 | 3,02 <b>b</b> | 3,35 <b>b</b> | 3,19 <b>a</b> | 6,35 <b>b</b> | 6,29 <b>b</b> | 6,32 <b>a</b> | 9,37 <b>b</b>  | 9,64 <b>b</b>  | 9.50 <b>a</b>  |
| Cepa 135         | 2,92 <b>b</b> | 3,58 <b>a</b> | 3,25 <b>a</b> | 5,52 <b>b</b> | 7,15 <b>a</b> | 6,34 <b>a</b> | 8,44 <b>b</b>  | 10,73 <b>a</b> | 9.59 <b>a</b>  |
| Cepa 138         | 2,97 <b>b</b> | 3,77 <b>a</b> | 3,37 <b>a</b> | 5,92 <b>b</b> | 7,21 <b>a</b> | 6,56 <b>a</b> | 8,89 <b>b</b>  | 10,98 <b>a</b> | 9.93 <b>a</b>  |
| Cepa 139         | 2,93 <b>b</b> | 3,14 <b>b</b> | 3,03 <b>b</b> | 5,99 <b>b</b> | 6,39 <b>b</b> | 6,19 <b>b</b> | 8,92 <b>b</b>  | 9,52 <b>b</b>  | 9.22 <b>b</b>  |
| Cepa 143         | 3,01 <b>b</b> | 3,69 <b>a</b> | 3,35 <b>a</b> | 6,09 <b>b</b> | 6,73 <b>a</b> | 6,41 <b>a</b> | 9,11 <b>b</b>  | 10,42 <b>a</b> | 9.76 <b>a</b>  |
| Cepa 164         | 2,77 <b>b</b> | 3,17 <b>b</b> | 2,97 <b>b</b> | 6,73 <b>a</b> | 6,25 <b>b</b> | 6,49 <b>a</b> | 9,51 <b>b</b>  | 9,43 <b>b</b>  | 9.47 <b>a</b>  |
| Cepa 165         | 2,33 <b>c</b> | 3,25 <b>b</b> | 2,79 <b>b</b> | 6,27 <b>b</b> | 5,81 <b>b</b> | 6,04 <b>b</b> | 8,60 <b>b</b>  | 9,06 <b>b</b>  | 8.83 <b>b</b>  |
| Cepa 166         | 2,91 <b>b</b> | 3,09 <b>b</b> | 3,00 <b>b</b> | 6,12 <b>b</b> | 6,29 <b>b</b> | 6,21 <b>b</b> | 9,03 <b>b</b>  | 9,38 <b>b</b>  | 9.20 <b>b</b>  |

<sup>1</sup>Letras iguais na coluna não difere estatisticamente pelo teste de agrupamento de Scott-Knott (1976) a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>E1: Experimento1, E2: Experimento .

